

REMARKS

A Request for Continued Examination, a Copending Letter, an Information Disclosure Statement, and a Request for three-month Suspension of Action were filed on July 26, 2007. Also, a Supplemental Amendment was filed on October 25, 2007. The remarks presented herein are supplemental to those presented in the Supplemental Amendment of October 25, 2007.

Status of the Claims

Claims 22, 41, 62 and 64-68 are pending in this application. No claims are being amended, added or canceled. Thus, a listing of the claims is not needed.

In view of the following remarks, Applicants respectfully request that the Examiner withdraw all rejections (as stated in the Final Office Action of February 26, 2007) and allow the currently pending claims.

Issues under 35 U.S.C. § 103(a)

Claims 1, 2, 6-9, 13-16, 20-22, 25, 28-30, 35-37, 40-53, 55-59 and 61-63 stand rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being unpatentable over Tai (U.S. Patent No. 5,013,557; hereinafter referred to "Tai '557") in view of Kawakami *et al.* (*J. Bioorganic & Med. Chem. Lett.*, Vol. 4, pp. 1429-1446 (1996); "Kawakami") (see pages 2-3 of the Office Action dated February 26, 2007).

Also, claims 33-34 stand rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being unpatentable over Tai '557 in view of Kawakami as applied above, and further in view of Morikazu *et al.*

(JP 4-346937; hereinafter “JP ‘937”) (see pages 3-4 of the Office Action of the Office Action February 26, 2007).

Further, claims 1, 2, 6-9, 13-16, 20-22, 25, 28-30, 35-37, 40-53, 55-59 and 61-63 stand rejected under 35 U.S.C. § 103(a) as being unpatentable over Diehl (U.S. Patent No. 5,612,026; hereinafter “Diehl ‘026”) in view of JP ‘937 (see pages 4-5 of the Office Action dated February 26, 2007).

Applicants respectfully submit that the previous response of October 25, 2007 is fully responsive to these rejections. The following comments are merely supplemental and provide additional reasons as to why the outstanding rejections are improper.

The Present Invention

The present invention, as recited in claim 22, is directed to an oral medicine preventing an unpleasant taste which comprises a mixture comprising a basic medicine (donepezil hydrochloride) having an unpleasant taste and an acidic polysaccharide. In the present invention, the mixture is in a homogeneous blend and said basic medicine and acidic polysaccharide are in intimate contact in order to form an electric interaction and to prevent the basic medicine from dissolving in saliva. The present invention is also directed to a method of manufacturing as recited in pending claim 41.

The Bitter Taste of Donepezil Hydrochloride

Applicants have previously argued that the unpleasant, basic taste of donepezil

hydrochloride was not known at the time the present application was filed, and that one of ordinary skill in the art was not aware of the bitter or unpleasant taste of donepezil hydrochloride before the priority dates of the present application. For instance, as previously explained, ARICEPT was in the form of a film tablet and thus it was not known that donepezil hydrochloride itself had a bitter taste. Also, as further support of Applicants' position, Applicants previously submitted the following evidence:

- **Evidence A:** excerpt from the *Instruction Manual for Japanese Pharmacopeia* (13th Ed. 1996), together with an English language translation thereof (3 pages total);
- **Evidence B:** excerpt from *Modern Pharmaceutics* (Third Ed. 1996);
- **Evidence C:** excerpt from the *Technical Report of IEICE OME 2000-80*, titled "Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor" (pages 125-130, include English language Abstract on page 125); and
- **Evidence D:** excerpt from *Pharm. Tech. Japan*, Vol. 17(9), pp. 31-33 (2001).

As previously stated, Evidence A shows a coated tablet as including a film-coated tablet and a sugar-coated tablet, wherein the coating serves multiple purposes. Evidence B shows that a "coated tablet" means coating of tablets, including film-coating, that is carried out for the purpose of masking an unpleasant taste, masking an unsightly appearance of uncoated tablets, increasing patient acceptability, and preventing degradation caused by moisture, air or light. Evidence C shows that the bitter taste of donepezil hydrochloride was first revealed by Eisai Co., Ltd. And Evidence D shows the first public exposure to the name of donepezil hydrochloride, wherein, e.g., Figure 5 reveals that donepezil hydrochloride has a very unpleasant taste.

Thus, Applicants have provided Evidence labeled as A-D showing that one of ordinary skill in the art was not aware of the bitter or unpleasant taste of donepezil hydrochloride before the priority dates of the present application (March 28, 1997, which is the priority date of one of the corresponding Japanese applications, and March 26, 1998, which is the filing date of the PCT application). Applicants provide the following additional explanation regarding Evidences A-D.

Applicants note that they only previously submitted a partial English language translation of Evidence C, and no such translation of Evidence D. Specifically, for Evidence C, only an English language translation of page 125 of the *Technical Report of IEICE OME 2000-80* was provided. Now, enclosed herein is a more complete English language of Evidence C shown as pages 1-11, wherein these English language pages correspond to pages 125-130 of the Japanese text. Also, for Evidence D, an English language translation shown as pages 12-19 is provided, wherein these pages correspond to the Japanese text shown at pages 31-36 of the *Phar. Tech. Japan* article. Evidences A-B are being submitted herewith again.

Evidence A and the Enclosed English Language Translation of Evidence C

The evaluation of the taste of donepezil hydrochloride was for the first time presented at the conference in August 2000. This revelation regarding the bitter taste was disclosed by Applicants as shown in Evidence A (edited by the institute in August 2000). However, the name of donepezil hydrochloride was not specified at that point in time as can be seen in Evidence C.

In the abstract of the first page of Evidence A, the method of quantification of taste of a medicine is disclosed. The name of donepezil hydrochloride is not specified even in this

literature. In Evidence C, the description “Model drug substance: MDHC1 (basic hydrochloride)” shown in Table 2 (at page 3 of the English version) as a medicament used in the described experiment is donepezil hydrochloride. Also, as is shown in Figs. 2, 3, 4, 7 and in Table 4 of Evidence C, donepezil hydrochloride is described as having an extremely bitter taste.

English Language Translation of Evidence D

It was for the first time disclosed by Applicants, as shown in Evidence D (which is edited in September 2001), that donepezil hydrochloride has an unpleasant taste, wherein the name “donepezil hydrochloride” is first revealed. Also, Applicants note that “donepezil” is described in Figures 4 and 5 (see pages 34 and 35, respectively, of the Japanese text). It also is shown in these figures that donepezil hydrochloride has an extremely bitter taste (see also section 2.2.2 at pages 16-17 of the English language version). Finally, Applicants describe in their own specification that donepezil hydrochloride has an extremely bitter taste, wherein such a description is relying on the experimental results of Evidence D.

Overall

Accordingly, Applicants have established that the bitter taste of donepezil hydrochloride was not even known at the time of the priority dates of the present application. Without such knowledge, Applicants respectfully submit that one of ordinary skill in the art would not even know to mask the (unknown) bitter taste of this active ingredient. Applicants have provided Evidences A-D as objective proof of the state of the art.

Thus, the requisite motivation and/or reasonable expectation of success are lacking with respect to the all outstanding rejections as the cited references are improperly combined. Reconsideration and withdrawal of these rejections are respectfully requested.

Conclusion

In view of the above remarks, coupled with the previous remarks and claim amendments of October 25, 2007, Applicants believe the pending application is in condition for allowance. A Notice of Allowability is respectfully requested.

Should there be any outstanding matters that need to be resolved in the present application, the Examiner is respectfully requested to contact Eugene T. Perez, Reg. No. 48,501, at the telephone number of the undersigned below, to conduct an interview in an effort to expedite prosecution in connection with the present application.

If necessary, the Commissioner is hereby authorized in this, concurrent, and future replies to charge payment or credit any overpayment to Deposit Account No. 02-2448 for any additional fees required under 37.C.F.R. §§1.16 or 1.14; particularly, extension of time fees.

Dated: DEC 19 2007

Respectfully submitted,

By 

Marc S. Weiner
Registration No.: 32,181
BIRCH, STEWART, KOLASCH & BIRCH, LLP
P.O. Box 747
Falls Church, Virginia 22040-0747
(703) 205-8000
Attorney for Applicant

Attachments:

- **Evidence A:** excerpt from the *Instruction Manual for Japanese Pharmacopeia* (13th Ed. 1996), together with an English language translation thereof (3 pages total);
- **Evidence B:** excerpt from *Modern Pharmaceutics* (Third Ed. 1996) (4 pages total)
- **Evidence C:** Excerpt from *Technical Report of IEICE OME 2000-80*, "Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor," pp. 125-130 and pp. 1-11 in English language
- **Evidence D:** Excerpt from *Pharm Tech Japan*, Vol. 17(9), 2001, pp. 31-37 and pp. 12-19 in English language

English Translation of Evidence A

日本薬局法第13改正解説書(1996)
A-101 コーティング剤

Instruction Manual for the Japanese Pharmacopoeia, Thirteenth Edition

General Notices

General Rules for Preparations

General Tests

1996

Published by Hirokawa Publishing Co., Tokyo

Coated Tablets

Tablet coating may be performed on tablets to improve ingestion by masking bitterness, odor and stimulation, photostability, and product values by making luster appearance, or to add such as enteric and long-acting functions. Compression-coated tablet and glue-coated tablet are also one of coated tablets but generally when it is called coated tables, it indicates 2 kinds: film-coated tablet and sugarcoated tablet.

Compared to sugarcoating, film-coating is easy to operate, shorter for process time, and easy for automation. Also, when organic solvents are used, coating is possible without using water as solvent and there is a merit of not worrying about stability of drug substances, however, there are issues of residual solvents, explosion, and air pollution on the other hand. In case of water soluble film coating, which especially aiming for masking bitterness and stimulation, and improvement of photostability, coating using water as solvent is becoming a mainstream in these days. Furthermore, in case of enteric and long-acting film coating as well, a coating method by water as solvent using a latex-type base has been developed and is becoming a mainstream in these days. Materials used as film coating are ethylcellulose and so on for water insoluble, casein, methylcellulose, hydroxyl ethylcellulose, hydroxypropyl methylcellulose and so on for water soluble, copolymer of vinyl pyridine or alkyl vinyl pyridine with acryl acid type free acid for gastrointestinal fluid soluble, and hydroxypropyl methylcellulose phthalate, methacrylic acid copolymer L and cellulose acetate phthalate for enteric soluble.

Evidence A

第十三改正 日本薬局方解説書

通 則
製 劑 総 則
一 般 試 験 法

1996



東京 廣 川 書 店 刊 行



1025711

A-100 製 剤 総 則

ないと出来性をわるくし、重量偏差やキヤンデング(打錠に際して上まね崩れがはがれる現象)などの原因となるため、原料薬品に最適な結合剤を定めるようにする。

崩壊剤は水中又は胃液中で錠剤に崩壊性を与える添加剤である。でんぷん(薬剤の5%、必要に応じて10~20%程度加える)が最も広く用いられる。最近では崩壊性の優れたカルメロースカルシウム、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターナトリウムなども使用されている。

滑沢剤は打錠に際し薬品や添加剤がきねやうすに付着しないようにし、均一な圧縮成型性が得られるように働く。通例、ステアリン酸マグネシウム(0.2~0.5%)、滑沢剤(0.5~2%)が使用される。このほかステアリン酸、ショ糖脂肪酸エステルなども用いられる。適量の滑沢剤の添加により打錠は非常に容易となり、また表面の美しい錠剤ができるが、添加剤が多すぎると硬度が低下し、崩壊性・溶出性も悪くなる。

錠剤の製造法は直接粉未圧縮法(直打法)と顆粒圧縮法(間接圧縮法)とに大別され、直接粉未圧縮法：一般的に薬品が水や熱に不安定である場合に適用され、薬品と必要な添加剤を混合し、直接、打錠機で錠剤に圧縮成型する方法である。乾式圧縮法、湿式圧縮法に比較して、製造工程数は最も少なく、経済的な利点がある。一方、原料の物性が直接圧縮成型性に影響し、混合末の流動性が不良である場合には重量変動が大きくなり、また打錠中に薬品の分離・崩析によって含量均一性の確保が困難となる場合もある。すべての薬品に適用することはできない。しかし、打錠機の改良やこの方法に適した添加剤が開発されたことにより、かなり広範囲の薬品に適用されるようになった。

お、一般的に錠剤の良好な崩壊性・分散性は期待しうるが、特に難溶性薬品などの場合には必ずしも溶出性は良好とならないので注意を要する。

乾式顆粒圧縮法：一般的に水や熱に不安定であり、直接粉未圧縮法では混合末の流動性や、圧縮成型性に問題がある場合に適用される方法である。薬品に応じて賦形剤、粉末状の結合剤、崩壊剤、滑沢剤を加えて混合物とし、これを低速の打錠機(スラッグマシン)で、強圧成型して直径15~30mmの薄い大きな平たい錠剤(Slugと呼ぶ)を製し、これを適当な粒度に粉砕し、滑沢剤及び必要に応じて更に崩壊剤を加えた後再び通常の打錠機で圧縮成型して錠剤を製する。スラッグマシンの代わりにローラーコンパクターを用いて二つのローラーの間に混合物を供給して、板状あるいは板状に成型し、これを粉砕してスラッグ顆粒を作る方法もある。

湿式顆粒圧縮法：最も一般的に用いられている製法で、圧縮成型が容易であり、重量偏差が小さく、含量均一性も良好であり、崩壊も遅やかめであるのみならず、外観も美観である。薬品に賦形剤、滑沢剤を加え、液状の結合剤を添加して造粒機で適当な大きさの軟塊を作り、乾燥機で乾燥する。乾燥後大きな顆粒は砕き、滑沢剤及び必要に応じて崩壊剤を加えて打錠機により圧縮成型する。また最近では、薬品、賦形剤の混合物をコンパクターの下から熱風を供給することによって流動させながら水又は結合剤溶液を噴霧し湿式造粒する、一つの領域で連続して造粒と乾燥ができる流動造粒機も利用されて

製 剤 総 則 A-101

いる。

圧縮成型用の打錠機としては22~67組のきね、うすがターネーブルに取り付けられ、ターネーブルの1回転により取り付けられているきね、うすの組数だけ錠剤ができる大量生産(打錠毎分約800錠)に適したロータリー(回転式)打錠機が用いられる。小規模の生産には1組のきね、うすにより打錠される半箱式打錠機も用いられる。最近では錠剤製造、打錠圧力を自動制御する無人による自動打錠機の運転が実用化されている。打錠機による圧縮工程を図1に示す。

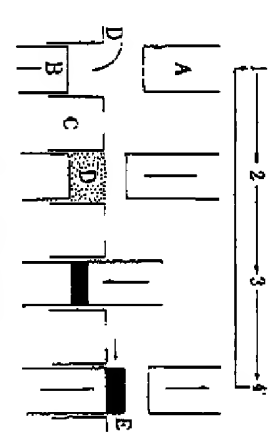


図1 錠剤圧縮工程

- A: 上きね B: 下きね C: うす
- D: 顆粒 E: 錠剤

コーティング錠剤

苦み、におい、刺激のメスキングによる服用性の向上、耐光性の向上、光沢のある外観にすることによる商品価値の向上、あるいは腸溶性、持続性などの機能を付与するために錠剤に利度をコーティングすることがある。圧縮コーティング錠剤、膠衣錠もコーティング錠剤の一つであるが、一般的にコーティング錠剤という場合はフィルムコーティング錠と別なコーティング錠の2種類を指す。

フィルムコーティングは膠衣に比べて操作が簡単で、工程時間短く、また自動化することが容易である。また有機溶媒を用いず、水を溶剤として使用しないのでコーティングできるのが薬品の安定性を心配しないですむ利点があるが、他方で残留溶媒、懸濁、大気汚染の問題があり、特に苦み、刺激のメスキング、耐光性の向上を目的とした水溶性フィルムコーティングの場合には、最近では水を溶剤とするコーティングが主流となっている。なお、腸溶性及び持続性フィルムコーティングにおいても最近、ラテックス系の基剤を利用した水溶性によるコーティング法が開発され主流となりつつある。用いる皮膜の材質は、水不溶性ではエチルセルロースなど、水溶性ではカゼイン、メチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロースなど、胃腸液面溶性ではビニルピリジン又はアルキルビニルピリジンとアクリル酸系遊離性との共重合体など、腸溶性にはヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタアクリル酸コポリマーや酢酸ブチルセルロースが用いられている。

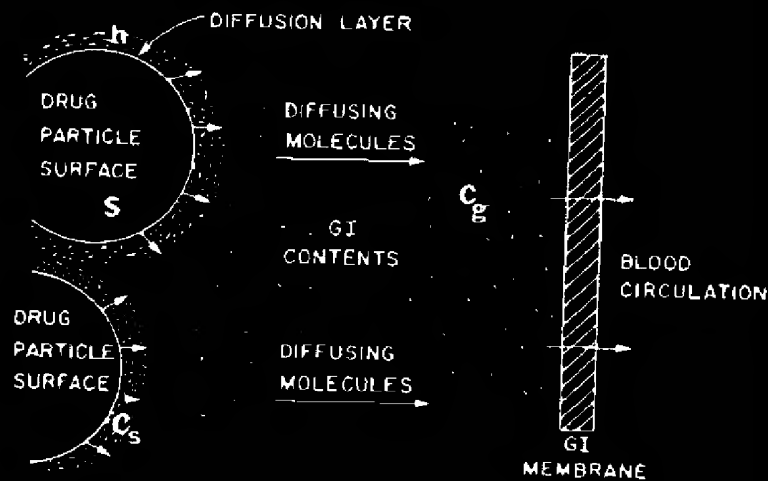
この錠

DRUGS AND THE PHARMACEUTICAL SCIENCES

VOLUME 72

Modern Pharmaceutics

Third Edition, Revised and Expanded



edited by
Gilbert S. Banker
Christopher T. Rhodes



Library of Congress Cataloging-in-Publication Data

Modern pharmaceuticals / edited by Gilbert S. Banker, Christopher T. Rhodes. — 3rd ed., rev. and expanded.

p. cm. — (Drugs and the pharmaceutical sciences ; v. 72)

Includes bibliographical references and index.

ISBN 0-8247-9371-4 (alk. paper)

1. Drugs—Dosage forms. 2. Biopharmaceutics.

3. Pharmacokinetics. 4. Pharmaceutical industry—Quality control.

I. Banker, Gilbert S. II. Rhodes, Christopher T. III. Series.

RS200.M63 1995

615'.1—dc20

95-33238

CIP

The publisher offers discounts on this book when ordered in bulk quantities. For more information, write to Special Sales/Professional Marketing at the address below.

This book is printed on acid-free paper.

Copyright © 1996 by Marcel Dekker, Inc. All Rights Reserved.

Neither this book nor any part may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, microfilming, and recording, or by any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

Marcel Dekker, Inc.

270 Madison Avenue, New York, New York 10016

Current printing (last digit)

10 9 8 7 6 5 4 3

PRINTED IN THE UNITED STATES OF AMERICA

also been reviewed [111], and a more recently published book [126] is devoted solely to this subject. In addition, details of individual instrumentation techniques are usually described in the papers of authors reporting data.

There has also been significant growth in the number of press manufacturers offering instrumentation packages for use with high-speed, multistation machines, to control tablet weight variation and, in some cases, divert out-of-tolerance tablets to a reject container. The more sophisticated systems result in a fully automated press operation, with essentially no operator intervention required (Fig. 20).

V. COATED TABLETS

The coating of pharmaceutical tablets may be divided conveniently into the traditional sugar, or pan-coating procedures, and contemporary techniques that include film coating and com-

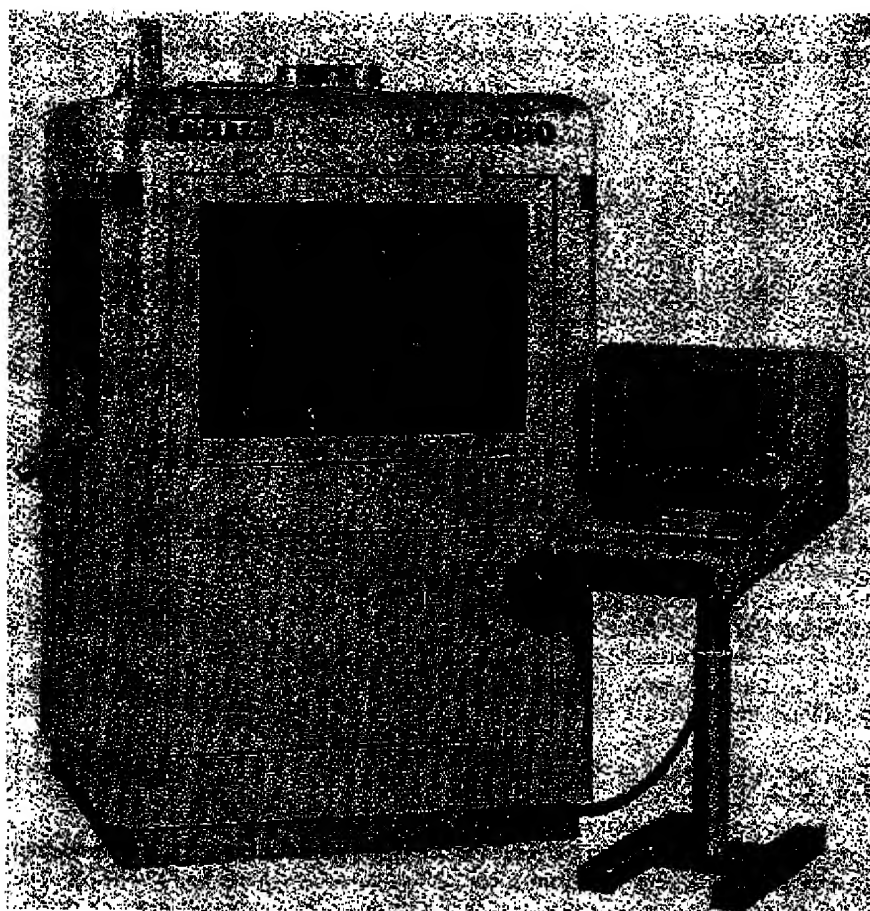


Fig. 20 Automated high-speed rotary tablet press.

office

o this
ed inig in-
weight
more
eratorsugar,
com-

Tablet Dosage Forms

375

pression coating. Coating methods were developed for a variety of reasons, including the need to mask an unpleasant taste or unsightly appearance of the uncoated tablet, as well as to increase patient acceptability. Protection of an ingredient from degradation effects, caused by exposure to moisture, air, and light, were further incentives. The newer techniques have extended the usefulness of coating to include the facilitation of controlled-release characteristics and the ability to coformulate inherently incompatible materials.

A. Sugar Coating

The sugar-coating process involves building up layers of coating material on the tablet cores, as they are tumbled in a revolving pan, by repetitively applying a coating solution or suspension and drying off the solvent. Traditionally, the cores were made using tooling with deep concave geometry to reduce the problems associated with producing a sufficient coat around the tablet's edge, as illustrated in Fig. 21. However, this shape may not be ideal for all products because of the inherently softer crown region exhibited in tablets manufactured from such tooling. In addition, deep concave tooling often produces tablets of poor mechanical strength [127]. Core mechanical strength, in particular friability, must be adequate enough to withstand the abrasive effects of the tumbling action while retaining the dissolution characteristics of an uncoated tablet. Large tablets, in particular, sometimes require higher compressional forces than are necessary for uncoated tablets of the same size. Care must also be exercised to minimize penetration of coating solutions into the core itself, although the coat should adhere well to the tablet surface. It will also be important to maintain a smooth, uniform surface and to provide careful control of the environment within the coating pan. Because of these requirements, the process may best be described by means of a generalized example.

In the past, the initial layers of coating (the sealing coat) were achieved by applying one or two coats of shellac. However, owing to the variability between batches of this material, PVP-stabilized types of shellac or other polymeric materials, such as cellulose acetate phthalate (CAP) and polyvinyl acetate phthalate (PVAP), are now more popular. It should be appreciated that the sealing coat must be kept to the minimum thickness consistent with providing an adequate moisture barrier—not a simple balance to achieve.

The next stage is to build up a subcoat that will provide a good bridge between the main coating and the sealed core, as well as rounding off any sharp corners. This is normally a two-

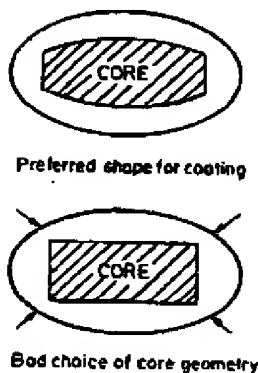


Fig. 21 Tablet-coating geometry.

医薬品における味の定量的評価に関する研究

原田 努、加藤 隆、岩本 清

エーザイ株式会社 製剤研究所 川島研究室

岐阜県 羽島郡 川島町 竹早町 1

TEL : (058689)4716

E-mail : t-harada@hhc.eisai.co.jp

あらまし 医薬品の研究開発においては、化合物の安全性が不確かであったり、活性が強くヒトによる官能試験が難しい場合が多い。また、苦味の強い薬物では、複数のサンプルの味を比較することができない。そこで本研究では味センサを用いて、各種化合物に対する脂質膜の応答電位パターンを調べ、未知の化合物をこれに当てはめることにより味の予測が可能であることを明らかにした。次に、不快な味の塩基性薬物に酸性多糖類を配合し、苦味マスキング効果を定量的に評価できることを示した。最後に、固形製剤の評価にも応用を図り、口腔内で溶解しながら味として認知されていく過程を評価する方法を考案し、速崩錠の味を測定したところ、実際の口腔内における味の変化をよく再現した。

キーワード 味センサ、医薬品、味の予測、苦味マスキング、固体剤の味、速崩錠

Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor

Tsutomu Harada, Takashi Kato, Kiyoshi Iwamoto

Eisai Co., Ltd. Formulation Research Lab. Kawashima Research
(Kawashima Industrial Park, Takehaya, Kawashima-cho, Hashima, Gifu,
Japan)

Phone : (058689)4716

E-mail : t-harada@hhc.eisai.co.jp

Abstract

Quantification of taste of medicines is important for pharmaceutical formulation research. It's dangerous for humans to taste a drug substance at an early development stage, because its safety is not investigated sufficiently. A taste sensor can be applied to evaluating taste of an unknown drug substance and effectiveness of an additive that conceals unpleasant taste of a drug substance. In the present study, the taste sensor was applied to detecting taste of the only liquid form. The present method can be expected to provide a new method to measure taste of solid medicine.

key words taste sensor, taste of medicines, estimation of taste, inhibitors of unpleasant taste, taste of a solid, rapid disintegration tablet

1. Introduction

The taste of drug is generally evaluated by measuring the content of the drug substance in samples or by performing organoleptic examination with many human testers. However, the quantification of the bitter substance by chemical analysis is meaningless when the target preparation contains a sweetener to mask its bitter drug substance. Further, organoleptic examination with testers cannot be used for compounds at the early stage of development whose safety has not been confirmed. Another obstacle of organoleptic examination is the difficulty of consecutively comparing different samples of drugs with strong bitterness or numbness.

The present study was designed to quantitatively evaluate drug taste using SA402, a taste perception device based on 8 lipid membrane sensors with different response characteristics. First, the pattern of the change in the response potential of the lipid membranes to different compounds was investigated to develop a method to predict the taste of unknown novel compounds. Second, it was examined whether it was possible to quantitatively evaluate the effect of an additive used to mask the unpleasant taste of a drug substance. Finally, the taste sensors designed to measure the taste of liquid samples were modified for solid samples. For that purpose, a device to simulate the oral process of perceiving drug taste during mastication and dissolution was developed and experimentally applied to the evaluation of the taste of a rapid disintegrating tablet.

2. Taste prediction of compounds whose safety has not been confirmed

2.1 Need for taste predicting technique

Drug taste has a great influence on the easiness to take oral preparations and is considered as one of the factors that decide drug compliance. The influence of taste is particularly strong for preparations intended for children or for powder or liquid preparations. The taste of a drug substance is one of the important physical characteristics in formulation design. However, the safety of a drug substance is often unknown at the stage of prescription design and tasting may pose a great risk to testers. Therefore, we tried developing a method using taste sensor to predict the taste of compounds that could not be tested with organoleptic examination.

Most of available taste sensors are designed to quantify the difference among tastes of the same kind. For example, earlier studies have reported the applications of

taste sensors to the distinction of different brands or lots of food products, such as beer¹⁾ and green tea²⁾, or the quantification of the effect of sweeteners added to mask bitter drugs^{3,4)}. However, to evaluate the taste of an unknown substance, it is necessary to select sensors that can distinguish any taste and use a reference substance that has a completely different taste from the unknown substance. An example of the prediction of drug compound taste is presented in this section, although the selection of specific lipid membrane sensors is not mentioned.

2.2 Prediction of compound taste

2.2.1 Experimental method

A taste perception device (SA402, Anritsu Corporation) was used to quantify taste. Table 1 lists three solutions used for taste measurement. The electric potential of the reference solution (V_r) was first measured and then that of each sample solution (V_s) measured. The change in electric potential ($V_s - V_r$) was considered as a taste signal. After the electric potential of the samples was measured, the lipid membranes were washed with the reference solution and the electric potential of the reference solution measured again (V_r'). The change in the electric potential of the reference solution after washing ($V_r' - V_r$) was considered as the value of the change of the membrane potential by adsorption (CPA), which was used to evaluate aftertaste⁵⁾.

Table 2 lists experimental samples. MDHCl is a temporary name of the model drug substance with unknown safety and taste. Each taste substance or drug substance was dissolved in pure water to prepare a sample solution at the concentration of 1 mM.

Table 1: Reference and washing solutions used

Solution	Component
Reference solution	30 mM KCl + 0.3 mM tartaric acid
Washing solution for 1 to 4 channels (-)	10 mM HCl + 30% ethanol
Washing solution for 5 to 8 channels (+)	10 mM KOH + 100 mM KCl + 30% ethanol

Table 2: Taste standards and model drug substance

	Taste substance and names of compounds
Acid taste (basic taste)	Citric acid
Salty taste (basic taste)	Sodium hydrochloride
Sweet taste (basic taste)	Sucrose
Delicious taste (basic taste)	L-sodium glutamate (MSG)
Bitter taste (basic taste)	Quinine sulfate
Model drug substance	MDHCl (basic hydrochloride) ←
Bitter taste standard 1	Azelastine hydrochloride
Bitter taste standard 2	Eperisone hydrochloride

2.2.2 Taste classification

The response patterns of the device to the five basic tastes and MDHCl aqueous solution were measured. As shown in Figure 1, MDHCl showed a similar pattern to quinine sulfate used as a representative bitter substance, which result suggests that the MDHCl aqueous solution is bitter.

2.2.3 Prediction of degree of bitterness

To investigate the degree of bitterness in the next step, MDHCl was then compared with taste standards which is known degree of bitterness in Table 2. The response potential of the bitter taste standards and MDHCl was measured to perform principal component analysis. The results are shown in Figure 2. Since earlier organoleptic examination demonstrated that azelastine hydrochloride was bitterest in standard bitter substances, it is thought that the first principal component (PC1) is bitterness, and that bitterness becomes stronger as the value increases. It is therefore reasonable to predict that MDHCl is not as bitter as azelastine hydrochloride or quinine sulfate, but is slightly bitter than eperisone hydrochloride. In fact, these substances are quite bitter and it is difficult to strictly compare their taste by organoleptic examination. However, since the second principal component was a sensation like numbness and azelastine hydrochloride caused highest numbness, it is considered that numbness becomes stronger as the PC2 value decreases. Thus, it could be predicted without organoleptic examination that MDHCl had similar taste to eperisone hydrochloride, and that it was necessary to mask the unpleasant taste of MDHCl in formulation design.

Figure 1: Response patterns of five basic tastes and model drug

Response potential (mV)

Channel

Citric acid

Sodium chloride

Sucrose

Quinine sulfate

2.2.4 Prediction of remaining bitterness (aftertaste)

Figure 3 shows the CPA values of the model drug and bitter standards used as an indicator of remaining taste. Since the bitter standards compared in this examination were basic compounds and positively charged in the aqueous solutions, they adsorbed to Channels 1 to 4 equipped with negatively charged membranes. Among them, azelastine hydrochloride remained most, indicating that it causes a bitter aftertaste. Since the CPA values are consistent with earlier organoleptic examination, it is considered possible to evaluate the aftertaste of a drug by measuring its CPA value. The results in Figure 3 suggest that MDHCl produces a weaker aftertaste than azelastine hydrochloride, but a slightly stronger aftertaste than eperisone hydrochloride or quinine sulfate.

Figure 2: Principal component analysis of model drug and bitter taste substances

(contribution rate: 30.9%)

(contribution rate: 63.5%)

Eperisone hydrochloride

Quinine sulfate

Azelastine hydrochloride

Figure 3: CPA values of model drug and bitter substances

CPA value (mV)

Quinine sulfate

Azelastine hydrochloride

Eperisone hydrochloride

3. Evaluation of effect of bitter taste masking agents

Masking unpleasant taste is an important technique for the formulation design of oral pharmaceutical preparations. Since it was predicted that MDHCl was bitter and numbing to the tongue after taking the drug as described above, it was necessary to mask the unpleasant tastes in the development of its liquid preparation. When a bitter taste masking technique with acid polysaccharides invented by Ukai et al ⁶⁾ was used to improve the taste of the MDHCl solution. It was found difficult to consecutively evaluate the drug by organoleptic examination due to its bitter aftertaste. It was necessary to develop a technique to allow the relative comparison of samples. Therefore, it was examined whether the taste sensors, SA402, could be applied to the quantitative evaluation of the effect of bitter taste masking agents.

Table 3 showed the bitter taste masking agents used and their characteristics. First, the bitter taste masking effect of the agents was evaluated by organoleptic examination with testers to provide the basis for comparison. Samples were prepared by dissolving each polysaccharide in a 0.1-wt/vol% MDHCl solution to prepare a solution at 0.5 wt/vol%. The samples containing the polysaccharides other than sodium chondroitin sulfate were heated to 80°C to dissolve them and then allowed to cool to room temperature. The concentration was the same as that of the target product of formulation design. The sample containing κ -carrageenan, ι -carrageenan, or agar turned to a gel, while that containing λ -carrageenan or LM pectin became a highly viscous sol.

Table 3: Additives compared for bitter taste masking effect

Additive	Characteristics
κ -carrageenan	Acid polysaccharide with one sulfate group, which turns into a gel by heating
ι -carrageenan	Acid polysaccharide with two sulfate groups, which turns into a weak gel by heating
λ -carrageenan	Acid polysaccharide with three sulfate groups, which does not turn into a gel, but is viscous
Sodium chondroitin sulfate	Acid polysaccharide with sulfate group(s), which does not turn into a gel

LM pectin	Acid polysaccharide with a carboxyl group, which turns into a gel with Ca^{2+}
Agar	Neutral polysaccharide that turns into a gel by heating

Table 4 shows the results of the organoleptic examination. The solution containing only MDHCl is used as a control solution. The other solutions contain the active ingredient and appropriate polysaccharide.

Table 4: Evaluation of bitter taste masking effect of polysaccharides by organoleptic examination

	Bitterness	Numbness
Active ingredient (MDHCl) only	+++	+++
κ -carrageenan	+	\pm
ι -carrageenan	+	+
λ -carrageenan	+	++
Sodium chondroitin sulfate	++	++
LM-pectin	+++	+++
Agar	++	+++

+++ : Very bitter and becomes very numb, ++ : Bitter and becomes numb, + : Slightly bitter and becomes slightly numb, \pm : Causes vague taste

Then, the samples were measured using SA402 to evaluate the bitter taste masking effect of the polysaccharides. Since the taste of the gel samples could not be evaluated as they were, the concentration of all the samples were diluted by adding 0.205 wt/vol% of each polysaccharide to a 0.041 wt/vol% (1 mM) aqueous solution of MDHCl (the content of each polysaccharide was five times that of MDHCl). None of the diluted samples turned into a gel at the concentration. Figure 4 shows the principal component analysis of the taste signals obtained with SA402.

Based on the results of the organoleptic examination, it was considered that the first principal component (PC1) represented bitterness, and that the bitter taste masking effect was increased as PC1 was reduced as compared to that of the control aqueous solution of MDHCl. For PC2, additives that could turn into a gel were generally located

on the positive side, but it remained unclear what taste was represented by it. The principal component analysis clearly showed that the bitter taste masking effect was low for agar and pectin and high for ι - and λ -carrageenans, which results were almost consistent with those of the organoleptic examination.

It has been revealed that carrageenans and chondroitin sulfate, which are acid polysaccharides with sulfate groups, trap unpleasantly tasting basic drugs through electrostatic interaction to prevent bitter or numbing substances from making contact with taste bud cells and, thereby providing masking effect. It is therefore anticipated that their effect is increased as sulfate groups and molecular weight are increased. Among acid polysaccharides, LM-pectin with carboxyl group failed to show evident bitter taste masking effect because of weak electrostatic interaction. Agar is a neutral polysaccharide and therefore has no the bitter taste masking effect by electrostatic interaction. The close relationship between the characteristics of the masking agents and analytical results with SA402 in Figure 4 is obtained interesting results.

Unlike the measurement results with SA402, the organoleptic examination showed a higher numbness masking effect of κ -carrageenan than λ -carrageenan. This was probably because the gelation of κ -carrageenan prevented the adsorption of bitter and numbing substances to taste bud cells during the organoleptic examination, while the samples of κ - and λ -carrageenan had to be converted from gels to aqueous solutions to evaluate taste in the analysis using SA402. However since gel cannot be measured to measure using the sensor and it was evaluated in solution state, the difference was occurred. This means that the current usage of SA402 covers only the chemical bitterness of liquid samples among various factors that constitute taste sensation. Solids are generally tasteless and their tastes are perceived only after they are dissolved in liquids, such as saliva. The taste perceived during the dissolution process is not included in the examination with SA402. The measures for solving this problem are discussed in the next chapter.

4. Measurement of change in taste over time during dissolution process of solid preparations

4.1 Measurement of taste of solid preparations masticated and dissolved in oral cavity

The applications of taste sensors have been limited to the taste of liquids: the taste

of solids is measured after they are dissolved in aqueous solutions or suspensions. However, granules, rapid disintegrating tablets, and jellies is taken changing from tasteless solids to liquids that have taste when they are masticated in the oral cavity and dissolved in saliva. As described above, the taste of such solids cannot be fully evaluated by measuring the taste of their aqueous solutions alone. It is meaningless to evaluate the taste of coated preparations to mask bitter taste by measuring the taste of their aqueous solutions. To perform a valid measurement on the taste of such solid preparations, it is necessary to evaluate of the change in taste over time during the disintegration and dissolution processes. Therefore, we developed an experimental method in which physical force was applied to a sample in a small amount of a solvent corresponding to saliva to disintegrate and dissolve it, thereby evaluating the change in taste over time until the sample reached the taste sensors corresponding to the taste bud cells of the tongue.

4.2 Experimental method

A test preparation for the experiment was a tablet that contained 10 mg of MDHCl and rapidly disintegrated only with saliva (rapid disintegrating tablet). Figure 5 shows an experimental system that simulated the dissolution of tablets in the oral cavity. 100 ml of a phosphate buffer solution at pH 6.8 (0.25 mM KH_2PO_4 + 0.25 mM Na_2HPO_4) was used as a releasing solvent and kept at 37°C. A 100-wire mesh was positioned at the bottom of the cell just below the fluid level of the solvent so that the solvent would slightly appear above the wire mesh. Two rapid disintegrating tablets were put into the cell at the measuring and dissolved by stirring the solvent with blades rotating at 25 rpm. This system rapidly dispersed the eluted substance in the solvent. Five mL of the solvent was collected every 10 seconds and at the same time, volume of 5 mL of the new solvent added to the cell from top of the cell. Each sample collected was passed through a 200-mesh filter into a 100-mL measuring flask. Purified water was added to each flask to make 100 mL at the end of the experiment. The solutions obtained were measured with SA402.

Figure 5: Oral dissolution test equipment

Motor

Solvent added

Sampling
 Tablet
 Fluid level of solvent
 Solvent phase
 Thermostatic bath
 Stirrer

A calibration curve of the concentration of the taste substance at each dilution with the solvent against the response potential of each membrane in the examination was prepared to correct the concentration. Assuming that 20 mg of MDHCl was completely dissolved in 100 mL of the solvent, the concentration of the test solutions as prepared by diluting the samples at a ratio of 5 to 100 ranged from 0 to 0.001 wt/vol%. Figure 6 shows the response potential of each membrane in the concentration range. Since the figure shows that the membrane of Channel 3 most sensitively responded to the MDHCl concentration, the concentration was corrected with the calibration curve of Channel 3.

Figure 6. Relationship between response potential and MDHCl concentration

Response potential
 MDHCl concentration

MDHCl concentration at t seconds after putting tablets: $C[t]$

Change in electric potential of Channel 3 at t seconds: $V3[t]$

Calibration curve of MDHCl concentration: $C[t] = f(V3[t])$

Concentration at t seconds after correcting

Calculation for correcting concentration

The change in the electric potential of each channel as calculated with the corrected concentration was used to evaluate taste.

Change in electric potential of Ch. n: $Vn[t]$

Calibration curve of $Vn[t]$: $Vn[t] = fn^{-1}(C[t])$

4.3 Experimental results

The change in the taste signal over time was measured as described above. Figure 7 shows the principal component analysis of the results. It shows that PC1 representing bitterness increased over time.

Figure 7: Relationship between first principal component representing degree of bitterness and dissolution time of MDHCl rapid disintegrating tablet

Bitterness, PC1 (contribution rate: 90.9%)

Dissolution time (sec)

It markedly increased between 10 to 20 seconds. In fact, when the rapid disintegrating tablet was orally taken, it completely disintegrated in 10 seconds in oral and was mixed with saliva to produce bitter taste. These results suggest that this test method may evaluate the change in bitter taste while a solid formulation is dissolved in oral cavity.

Next, it was examined whether there was a difference in the bitter taste masking effect between κ - and ι -carrageenans in a rapid disintegrating tablet. Further, the releasing solvent collected at 30 seconds from the dissolution simulator was compared with a solution in which the rapid disintegrating tablet was ultrasonically dissolved. Figure 8 shows the principal component analysis including the case where only mannitol was combined as a sweetener. The contribution rate of PC1 was predominant at 99.5%: the taste became bitterer as the value increased and became less bitter (sweeter) as it decreased. That is, the figure indicates that carrageenans more greatly inhibited the bitterness of MDHCl than mannitol. It also suggests that ι -carrageenan provided higher bitter-taste masking effect than κ -carrageenan, as observed in Figure 4. Further, the comparison of the solvent collected at 30 seconds with the ultrasonically treated solution showed that the former solution was less bitter, which result supports that the present test method accurately represented the change in the taste perceived in the oral cavity.

Figure 8: Effect of κ -, ι -carrageenan and mannitol on bitterness of the rapid disintegrating tablet

Buffer solution at pH6.8

MDHCl aqueous solution

Mannitol aqueous solution

MDHCl + mannitol aqueous solution
Prescription containing κ at 30 seconds
Solution of prescription containing κ
Preparation containing ι at 30 seconds
Solution of prescription containing ι

5. Conclusions

The findings obtained from the present study are summarized below.

- (1) It is suggested that the taste of compounds at the early stage of development of drugs whose safety has not been confirmed can be predicted using the taste sensors, SA402.
- (2) The effects of acid polysaccharides to mask the bitterness of basic drugs were quantitatively evaluated using the taste sensors. The result showed that the quantitative evaluation using the taste sensors provided useful information for formulation design.
- (3) Conventional evaluation using taste sensors was limited to liquid preparations or solutions of solid formulations. A system to evaluate the change in the taste of a solid formulation disintegrated and dissolved in a small volume of a liquid corresponding to saliva using the taste sensors was developed to simulate the process of gradually perceiving the taste of solid or semi-solid formulations through mastication and dissolution in saliva. When the temporal change in the taste of a tablet that rapidly disintegrated without water was measured with the system, the system showed the change in taste consistent with that in the oral cavity.

医薬品における味の定量的評価に関する研究

原田 努、加藤 隆、岩本 清

エーザイ株式会社 製剤研究所 川島研究室

岐阜県 羽島郡 川島町 竹早町 1

TEL : (058689)4716

E-mail : t-harada@hhc.eisai.co.jp

あらまし 医薬品の研究開発においては、化合物の安全性が不確かであったり、活性が強くヒトによる官能試験が難しい場合が多い。また、苦味の強い薬物では、複数のサンプルの味を比較することができない。そこで本研究では味センサを用いて、各種化合物に対する脂質膜の応答電位パターンを調べ、未知の化合物をこれに当てはめることにより味の予測が可能であることを明らかにした。次に、不快な味の塩基性薬物に酸性多糖類を配合し、苦味マスキング効果を定量的に評価できることを示した。最後に、固形製剤の評価にも応用を図り、口腔内で溶解しながら味として認知されていく過程を評価する方法を考案し、速崩錠の味を測定したところ、実際の口腔内における味の変化をよく再現した。

キーワード 味センサ、医薬品、味の予測、苦味マスキング、固体剤の味、速崩錠

Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor

Tsutomu Harada, Takashi Kato, Kiyoshi Iwamoto

Eisai Co.,Ltd. Formulation Research Lab. Kawashima Research
(Kawashima Industrial Park, Takehaya, Kawashima-cho, Hashima, Gifu,
Japan)

Phone : (058689)4716

E-mail : t-harada@hhc.eisai.co.jp

Abstract

Quantification of taste of medicines is important for pharmaceutical formulation research. It's dangerous for humans to taste a drug substance at an early development stage, because its safety is not investigated sufficiently. A taste sensor can be applied to evaluating taste of an unknown drug substance and effectiveness of an additive that conceals unpleasant taste of a drug substance. In the present study, the taste sensor was applied to detecting taste of the only liquid form. The present method can be expected to provide a new method to measure taste of solid medicine.

key words taste sensor, taste of medicines, estimation of taste, inhibitors of unpleasant taste, taste of a solid, rapid disintegration tablet

1. はじめに

医薬品の味の一般的な評価は、サンプル中の原薬の含量を測定するか、あるいは多数のパネラーの協力を得て官能試験によって行われている。しかし、甘味料を配合して原薬の苦味を隠ぺいしている製剤などでは、化学分析により苦味物質の定量を行ったところで味を評価したことにはならない。また、研究開発初期の化合物で、安全性に関して不確かなものは、人による官能試験は不可能であり、苦味や痺れ感の強い薬物では、1日に複数のサンプルの味を比較することができないという問題がある。

本研究では、応答特性の異なる8種類の脂質膜センサからなる味認識装置 SA402 を用い、医薬品の味の定量的評価を試みた。まず、各種化合物に対する脂質膜の応答電位変化のパターンを調べ、味が全く未知の新規化合物でも味を予測できるよう検討を行った。次に、不快な味の原薬に、その味を隠ぺいする添加剤を配合し、その効果を定量的に評価できるかどうか検証した。最後に、味センサは液体状のサンプルを測定する目的で設計されているが、固形製剤にも応用を図り、口腔内で咀嚼され、溶解しながら次第に味として認知されていく過程を評価する装置を考案し、速崩性錠剤の味の評価に適用したので報告する。

2. 安全性が不明確な化合物の味の予測

2. 1 味の予測技術の必要性

経口服用時の医薬品の味は、飲み易さに大きく影響し、正しく服用されるための要因の一つと考えられている。対象が小児であったり、剤形が散剤や液剤であればなおさらのことであり、原薬の味は製剤設計上重要な物性の一つである。しかし、処方設計する段階では、その原薬の安全性が十分に明らかになっていないことが多く、味見をすることは試験者にとって非常に危険である。そこで、味センサを用い、官能試験ができない化合物の味を予測することを試みた。

これまでの味センサの使用例は、同じ種類の味の中で差を定量化するものがほとんどであった。例えばビール¹⁾や緑茶²⁾といった食品の銘柄差やロット間差の識別、あるいは苦味のある医薬品に甘み物質を添加した効果の定量化^{3,4)}が報告されている。しかし、味が未知の場合、どのような味でも識別できるようなセンサを選定し、味の全く異なる物質を標準として設けなければ測定できない。ここでは、具体的な脂質膜センサの選定については触れないが、医薬品化合物の味の予測例について述べる。

2. 2 化合物の味の予測

2. 2. 1 実験方法

味の定量化には味認識装置 SA402 (アンリツ(株)製)を用いた。測定に使用した3種の溶液を Table 1に示す。測定の手順は、まず基準液の電位 V_r を測定し、次にサンプルの電位 V_s を測定した。 $(V_s - V_r)$ の電位変化が味信号である。サンプル測定後に脂質膜センサを基準液で洗浄し、再び基準液電位 V_r' を測定した。 $(V_r' - V_r)$ を CPA (Change of membrane Potential caused by Adsorption) 値として後味の評価に用いた⁵⁾。

実験に用いた試料を Table 2に示す。表中の MDHCl は安全性も味も未知と仮定したモデル原薬の仮称である。各味物質および薬物は純水に溶解し、1mM の濃度にしてサンプル溶液とした。

Table 1 使用した基準液と洗浄液

溶液名	構成成分
基準液	30mM KCl + 0.3mM 酒石酸
1~4ch(-)用洗浄液	10mM HCl + 30%エタノール
5~8ch(+)用洗浄液	10mM KOH + 100mM KCl + 30%エタノール

Table 2 味の標準物質とモデル薬物

	味物質と化合物名
酸味(基本味)	クエン酸
塩味(基本味)	塩化ナトリウム
甘味(基本味)	蔗糖
旨味(基本味)	L-グルタミン酸ナトリウム(MSG)
苦味(基本味)	硫酸キニーネ
モデル薬物	MDHCl (塩基性、塩酸塩)
苦味標準物質 1	塩酸アゼラスチン
苦味標準物質 2	塩酸エペリゾン

2. 2. 2 味の分類

まず、5基本味の応答パターンを測定し、次に MDHCl 水溶液の応答パターンを調べ、Fig. 1に示した。これらを比較した結果、MDHCl は苦味を代表する物質である硫酸キニーネと類似したパターンを示すことが分かった。すなわち、MDHCl 水溶液の味は苦いことが示唆された。

2. 2. 3 苦味の程度の予測

次のステップとして苦味の程度を調べるため、Table 2に示した苦味の程度が既知の標準物質と MDHCl を比較した。苦味標準物質と MDHCl の応答電位を測定し、主成分分析した結果を Fig. 2に示す。官能試験から、苦味標準物質の中でも塩酸アゼラスチンが最も苦いことが分かっているので、第1主成分 PC1 は苦味の因子であり、値が大きいほど苦いと考えられる。したがって、MDHCl は塩酸アゼラスチンや硫酸キニーネほど苦くなく、塩

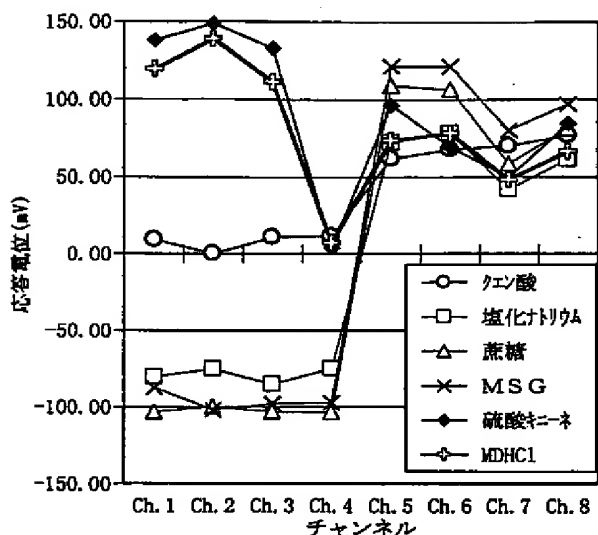


Fig. 1 5基本味とモデル薬物の応答パターン

酸エペリゾンよりは若干苦いという予測が成り立つ。実際これらの物質は非常に苦いため、官能試験で正確に味を比較することは難しいが、第2主成分は痺れ感のような感覚であり、これも塩酸アゼラスチンが最も強いので、PC2の小さい方が痺れ感が強いように考えられる。以上のようにMDHC1の味の官能試験を行うことなく、それが塩酸エペリゾンと似た味であり、製剤設計を行う上で不快な味の隠ぺいが必要であることを予測することができた。

2. 2. 4 苦味の残留性（後味）の予測

Fig. 3に味の残留性の指標となるCPA値を示す。本実験で比較した苦味物質は塩基性薬物であり、

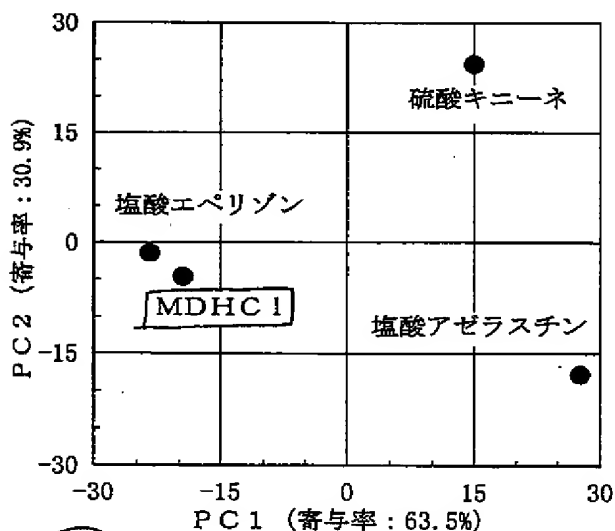


Fig. 2 モデル薬物と苦味物質の主成分分析結果

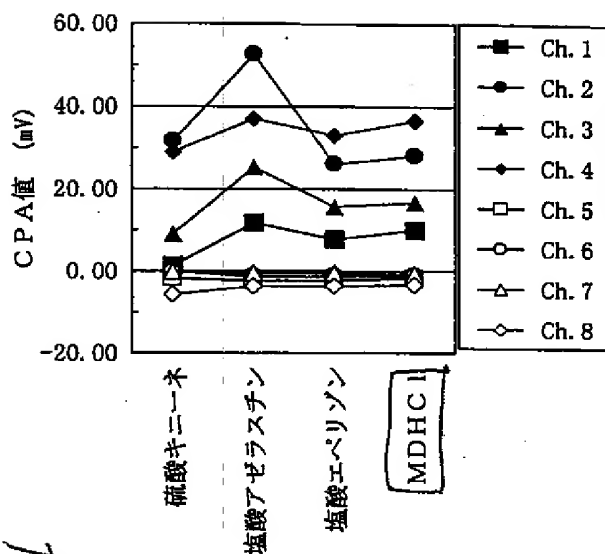


Fig. 3 モデル薬物と苦味物質のCPA値

水溶液中でプラス電荷を帯びているので、マイナス電荷の膜であるCh. 1~4に吸着していることが分かる。中でも塩酸アゼラスチンが最も強く残留しており、苦い後味が残ることを示している。これは官能試験の結果と一致していたので、CPA値を測定することで、薬物の後味を評価できることが明らかとなった。Fig. 3より、MDHC1は塩酸アゼラスチンより弱く、塩酸エペリゾンや硫酸キニーネより若干強く後味が残ることが示唆された。

3. 苦味マスキング剤の効果の評価

経口医薬品の製剤設計において不快な味のマスキングは重要な技術である。先の章で明らかにしたようにMDHC1には苦味があり、服用後の舌に痺れ感のような苦味が残るので、特に液体製剤の開発においてはこれら不快な味の隠ぺいが必要であった。そこで、鶴飼らが発明した酸性多糖類による苦味マスキング技術⁶⁾を用い、MDHC1水溶液の味の改善検討を行った。しかし、苦味などの後味が残る薬物の場合、官能試験では連続的に評価することが難しく、サンプル間の相対的比較が課題であった。そこで味センサSA402が苦味マスキング効果の定量的な評価方法として応用可能かどうかについて検討した。

Table 3に実験に使用した苦味マスキング剤とその特徴を示した。まず、味センサと対比する目的で、これら添加剤の苦味マスキング効果をヒトによる官能試験で評価した。サンプルは0.1wt/vol%のMDHC1溶液に、多糖類をそれぞれ0.5wt/vol%添加して調整した。コンドロイチン硫酸ナトリウム以外のサンプルは、80℃まで加熱して溶解させた後、室温まで冷却して評価した。この濃

度は製剤設計しようとしている製品と同じであり、 κ -カラギーナン、 ι -カラギーナン、寒天を添加したサンプルはゲル化し、 λ -カラギーナンおよび LM ペクチンは粘性の高いゾルとなった。

Table 3 苦味のマスキング効果を比較した添加剤

添加剤名	特徴
κ -カラギーナン	加熱するとゲル化する酸性多糖、硫酸基 1
ι -カラギーナン	加熱すると弱いゲルをつくる酸性多糖、硫酸基 2
λ -カラギーナン	ゲル化しないが粘性のある酸性多糖、硫酸基 3
コンドロイチン硫酸ナトリウム	ゲル化しない酸性多糖、硫酸基をもつ
LM ペクチン	酸性多糖類、カルボキシル基をもつ、 Ca^{2+} によりゲル化する
寒天	加熱するとゲル化する中性多糖

Table 4に官能試験の結果をそれぞれ示した。コントロール溶液は MDHCl のみの溶液であり、それ以外は主薬に多糖類を加えたサンプルである。

Table 4 官能試験による多糖類の苦味マスキング効果の評価

	苦味	痺れ
→ 主薬のみ (MDHCl)	+++	+++
κ -カラギーナン	+	±
ι -カラギーナン	+	+
λ -カラギーナン	+	++
コンドロイチン硫酸ナトリウム	++	++
LM ペクチン	+++	+++
寒天	++	+++

+++ : とても苦い・痺れる / ++ : 苦い・痺れる
+ : 少し苦い・痺れる / ± : かすかに何か感じる

続いて SA402 を用いて味を評価した。ゲル状のサンプルはそのままでは測定できないので、全サンプルの濃度を希釈し、0.041 wt/vol% (1mM) の MDHCl 水溶液に、5 倍量に相当する 0.205wt/vol% の多糖類を添加して、苦味マスキング効果を調べた。この濃度でゲル化しているサンプルはなかった。Fig. 4に SA402 を用いて測定した味信号を主成分分析した結果を示す。

官能試験から、第 1 主成分(PC1)は苦味をあらわし、コントロールである MDHCl 水溶液より PC1 が小さいほど苦味がマスキングされていると考えることができる。PC2 については、プラス側にゲル化能を有する添加剤が位置していることは分か

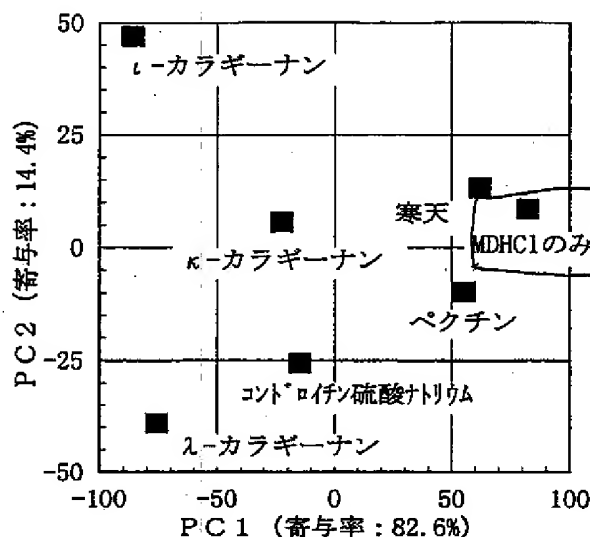


Fig.4 SA402による多糖類の苦味マスキング効果の評価(主成分分析)

るが、味としての意味は現時点では不明確である。しかし、この主成分分析結果は明らかに寒天とペクチンの苦味マスキング効果が低く、 ι 、 λ -カラギーナンの効果が高いことを示しており、官能試験の結果とほぼ一致していることが明らかとなった。

硫酸基をもつ酸性多糖類であるカラギーナンおよびコンドロイチン硫酸は、不快な味を呈する塩基性薬物を静電的な相互作用によりトラップし、味蕾細胞と苦味・痺れ物質が接触する確率を低減させることによりマスキング効果を発揮すると考えられる。したがって硫酸基が多いほど、また多糖の分子量が大きいほどその効果が高いことが予想される。一方、同じ酸性多糖類でもカルボキシル基をもつペクチンは、その静電的インターアクションが弱いため、苦味マスキング効果が顕著に認められなかった。寒天は中性多糖なので、静電的相互作用に由来する苦味マスキング効果はない。以上のマスキング剤がもつ特性と Fig. 4 の SA402 による解析結果は非常に関連性があり、興味深い結果が得られたといえる。

ところで実際の官能試験では SA402 の測定結果と異なり、 λ -カラギーナンよりも κ -カラギーナンの痺れマスキング効果の方が高かったが、これは κ -カラギーナンのゲル化により味蕾細胞への苦味・痺れ物質の吸着が低減されているためと考えられる。しかし、センサで測定するためにはゲルのままでは測定できないので、溶液状態で評価したため、この違いが生じた。このことは、SA402 の現行の使用方法では、味という多くの因子からなる感覚の内、液状のサンプルの化学的に苦いと

いう面だけを評価していることを意味している。すなわち、固体は基本的に味を呈しないので、唾液などの液体に溶解してはじめて感知されるが、その溶解過程の味が評価に反映されていない。そこで次の章において、この問題を解決する方法について検討した。

4. 固体剤の溶解過程における味の経時的変化の測定

4. 1 口腔内で咀嚼・溶解する固体剤の味測定

これまでの味センサの応用例は液体の味の測定であり、固形物は水溶液や懸濁液にしてその味を測定する方法がとられてきた。しかし、細粒剤、速崩錠、およびゼリー剤などは、口腔内で咀嚼されたり、あるいは唾液に溶解したりして、味のしない固体から味を呈する液体に変化しながら服用される。先にも述べたが、これらをはじめから水溶液にして測定しても、味の一面を評価しているに過ぎない。また、コーティングして苦味を隠ぺいた製剤の評価においては、溶解させて水溶液にして測定したのでは意味がなく、まさにこの問題をクリアしなければならない。そこで、唾液に相当する小量の溶解液存在下でサンプルに物理的な力を加え、崩壊・溶解させながら、舌の味蕾細胞に相当する味センサに到達するまでの経時的な味の変化を評価する方法を考案した。

4. 2 実験方法

本実験で評価する製剤として、前出の MDHCl を 10mg 含有し、唾液だけで速やかに崩壊する錠剤（速崩錠）を選んだ。Fig. 5 に本実験で使った口腔内溶解試験器を示す。放出液には pH6.8 のリン酸塩緩衝液（0.25mM KH_2PO_4 + 0.25mM Na_2HPO_4 ）100ml を用い 37℃ に保った。投入セルの底には 100 メッ

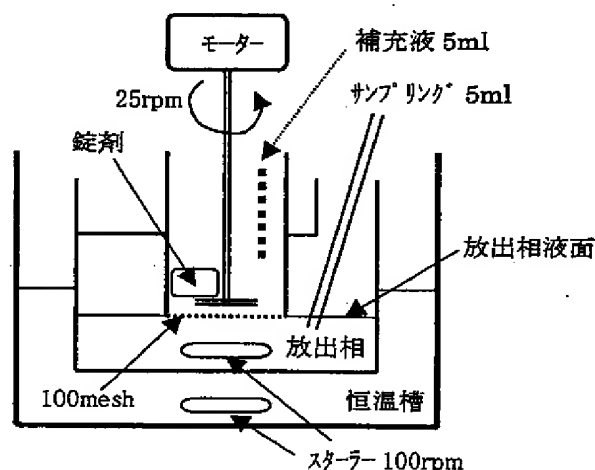


Fig.5 口腔内溶解試験器

シュの金網があり、放出液の液面より少し低い位置に調整し、金網上面にわずかに放出液がしみ出す状態をつくった。測定時には2錠の速崩錠を投入セルの上部から入れ、25rpmで回転する羽により攪拌しながら溶解させた。溶出した溶質は放出相中に速やかに拡散し、10秒おきにこれを5mlサンプリングし、同時に投入セル上部から新しい放出液を5ml補充した。サンプリングした溶液は、200メッシュフィルターで濾過して100mlメスフラスコに入れ、試験終了後に精製水でメスアップし、SA402を用いて測定した。

放出相からのサンプリング後、補充した放出液による試験液の希釈に対して、本実験では膜の応答電位と味物質の濃度の検量線を作成し、濃度を補正して評価した。20mgのMDHClが100mlの放出相に完全に溶解したとして、サンプリング後5/100に希釈するので、味を測定する濃度は0～0.001wt/vol%である。この濃度範囲における各膜の応答電位をFig. 6に示す。図からCh. 3の膜がMDHCl濃度に対し最も感度よく応答しているため、この検量線を使い、濃度を補正した。

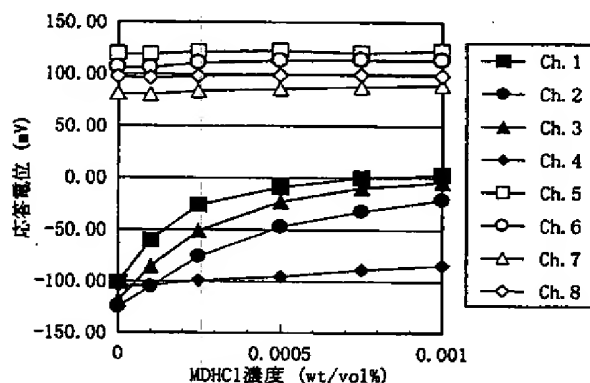


Fig.6 応答電位とMDHCl濃度の関係

投入後 t 秒での MDHCl 濃度: $C[t]$
 Ch. 3 の t 秒での電位変化: $V3[t]$
 MDHCl 濃度の検量線: $C[t]=f(V3[t])$
 t 秒での補正後の濃度: $Cr[t]$

濃度補正計算

$$\begin{aligned} Cr[10] &= C[10] \\ Cr[20] &= (C[10] \times 5 + C[20] \times 100) / 100 \\ Cr[30] &= (C[10] \times 5 + C[20] \times 5 + C[30] \times 100) / 100 \\ &\dots \end{aligned}$$

得られた補正濃度により、各チャンネルの電位変化を算出し、味の評価を行った。

$$\begin{aligned} \text{Ch. } n \text{ の電位変化: } &Vn[t] \\ Vn[t] \text{ の検量線: } &Vn[t]=fn^{-1}(C[t]) \\ V1[10] &= f1^{-1}(Cr[10]) \\ V2[10] &= f2^{-1}(Cr[10]) \\ &\dots \end{aligned}$$

$$V1[20] = f1^{-1}(Cr[20])$$

$$V2[20] = f2^{-1}(Cr[20])$$

...

4. 3 実験結果

前述の方法で経時的な味信号の変化を測定し、主成分分析した結果をFig. 7に示す。時間の経過と共に苦味を示すPC1が増していくことが分かる。

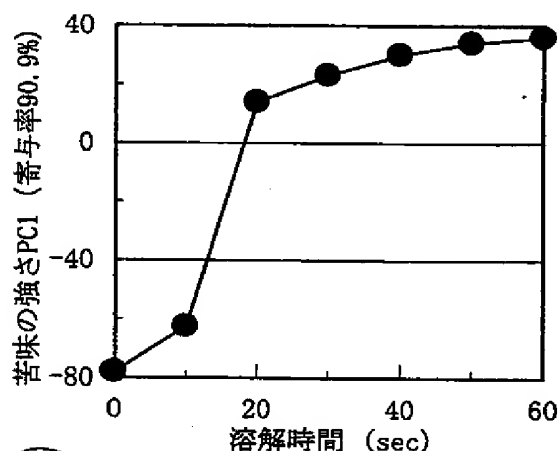


Fig.7 苦味の強さを示す第1主成分とMDHCl速崩錠の溶解時間の関係

特に10秒から20秒の間で顕著に増加している。実際にこの速崩錠を服用してみると、10秒ほどで口の中で完全に崩壊し、唾液と混ざりあい、苦味を帯びてくる。以上のことより、この試験法で固形剤などが口腔内で溶解する過程における苦味の変化を評価できることが示唆された。

次に、速崩錠においてκとι-カラギーナンとの間にマスキング効果の差があるかどうかを検証した。また、溶解試験器における30秒後の放出液と超音

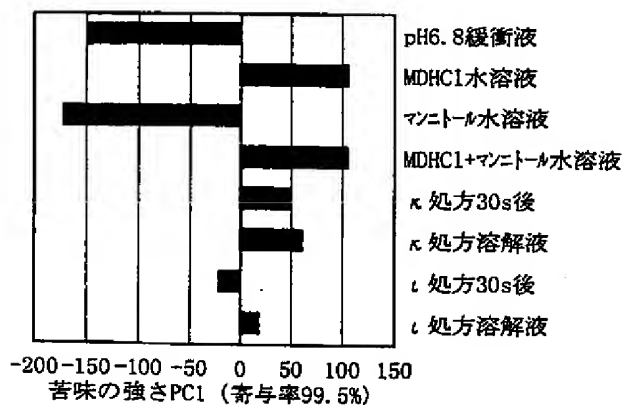


Fig.8 κ, ι-カラギーナンおよびマンニトールが速崩錠の苦味におよぼす影響

波で速崩錠を溶解させた溶液の比較も行った。さらに、甘味剤のマンニトールだけを配合した場合ともあわせて主成分分析し、Fig. 8に示した。PC1の寄与率は99.5%と支配的になり、この値が小さいほど甘く、大きいほど苦い味を示している。すなわち、カラギーナンの方が甘味を付与しただけのマンニトールより著しくMDHClの苦味を抑制していることが示された。さらに、Fig. 4と同様にκ-カラギーナンよりι-カラギーナンの方が苦味マスキング効果の強いことが示され、速崩錠が溶解し始めて30秒の状態と完全に溶解した状態では前者の方が苦味が少なく、口腔内での味を正確にあらわしていることが明らかになった。

5. まとめ

本研究から得られた知見を以下にまとめた。

- (1) 医薬品の開発初期段階において、安全性が不明確なために味を調べることができないような化合物においても、味センサ SA402 を用いることにより、味の予測が可能であることを示唆した。
- (2) 塩基性薬物の苦味を隠ぺいする酸性多糖類のマスキング効果を、味センサを用いて定量的に評価し、製剤設計上有用な情報が得られることを明らかにした。
- (3) 従来の味センサによる評価は、液体あるいは固体でも溶解させた後に測定する方法が主だった。本研究では、固体や半固形のものが口腔内で咀嚼され、溶解しながら次第に味として認知されていく過程をモデル化し、唾液に相当する少量の液体で固形物を崩壊・溶解させて、味の変化を評価する方法を考案した。一例として、水なしで速やかに崩壊する速崩錠を選び、その味の変化を時間と共に味センサを用いて評価したところ、実際の口腔内における味の変化と一致した結果が得られた。

文献

- 1) K.Toko, T.Murata, T.Matsuno, Y.Kikkawa and K.Yamafuji: Taste map of beer by a multichannel taste sensor. Sens. Materials, 4: 145-151, 1992
- 2) 池崎秀和、谷口晃、都甲潔: 味センサを用いた緑茶の味の定量化、Trans.IEE of Japan, Vol.117-E, No.9, Sep. 465-470, 1997
- 3) S.Takagi, K.Toko, K.Wada, H.Yamada, and K.Toyoshima: Detection of Suppression of Bitterness by Sweet Substance Using a Multichannel Taste Sensor. J.Pharm. Sci., 87, 552-555, 1998
- 4) 和田 耕一、1999年薬剤学会要旨集 p.243 P-36
- 5) 池崎秀和、駒井寛、内藤悦伸、東久保理江子、佐藤勝史、前田紀寛: SA401 味認識装置、アソシエイト No.71 159-166, 1996
- 6) 鶴飼宏治、原田努、鈴木康之: 特開平 11-228450

味センサーを用いた 医薬品の味の定量化

Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor

エーザイ株式会社 製剤研究所 川島研究室

原田努, 加藤隆, 大脇孝行, 岩本清

Eisai Co., Ltd. Formulation Research Lab. Kawashima Research

TSUTOMU HARADA, TAKASHI KATO, TAKAYUKI OWAKI, KIYOSHI IWAMOTO

1. はじめに

なぜ、医薬品の味をセンサーで測定する必要があるのだろうか。パネルの協力を得て行われる医薬品の味の官能試験には、次のような問題がある。

- ①安全性が不明確な開発初期の原薬の味見は危険。
- ②強い苦みや刺激のある薬物や、後味が残る薬物の連続的な評価は不可能。
- ③味を客観的に表現し、記録することは難しい。
- ④多くの人数を必要とする上、パネルの熟練度や体調などに評価が左右される。

特に(1)、(2)は医薬品業界に特有の問題であり、このような観点からはセンサーを用いた味の測定は、食品業界より潜在ニーズが高いかもしれない。1つの例としてプラセボを用いた比較試験が考えられる。試験薬物に特異な味がある場合、プラセボにも同様の味を付与しなければならないケースがある。したがって、プラセボの処方設計や品質管理を、科学的かつ定量的に行うにあたり、味センサーは特に有用であると期待される。

ところで、従来の化学分析により、味の評価はできる

のであろうか。答えは“NO”である。まず、化学分析では未知の化合物の味を予測することはまったくできない。また、高速液体クロマトグラフィーなどを用いた化学分析で測定するのは、基本的に液中の呈味物質の濃度である。例えば、苦味の代表格であるキニーネのドリンク剤を開発するにあたり、甘味剤のアスパルテーム®の配合量を検討する場合について考えてみる。甘味剤を増やしたところで、キニーネ濃度は変わらないので、化学分析により主薬濃度を測定しても無意味であることは容易に想像できる。味には相互作用があるので、個々の呈味物質の濃度を測定しても、味を評価することはできないのである。味センサーはこのような問題を解決できる可能性を秘めている。すなわち、苦味物質に甘味剤を添加すれば、苦味自体が減ったように数値化することができるのである。

味センサーは90年代初頭に実用化され、食品業界を中心に利用されてきた。ヒトでは難しい、ビール銘柄の特定や、工場間およびロット間の味のばらつきなども管理できるレベルにまで達している。しかし、医薬品に関してはどうか。キニーネに甘味剤を添加し、苦味が低減されることを確認したにとどまり、この10年間あまり、積極的に研究されてこなかった。著者らが3年ほ

QUANTIFICATION OF TASTE OF MEDICINES WITH TASTE SENSOR

1. Introduction

Why is it necessary to measure the taste of medicines with taste sensors?

Organoleptic examination of drug taste with human testers has the following problems.

- 1) It is dangerous to taste drug substances at the early development stage whose safety has not been confirmed.
- 2) It is impossible for human testers to consecutively evaluate drugs with strong bitter or pungent taste or aftertaste.
- 3) It is difficult to objectively express and record taste.
- 4) Organoleptic examination requires many testers and depends on their experience and physical condition.

Among them, the above 1) and 2) are common to the entire pharmaceutical industry. To solve the problems, the potential needs for taste sensors may be high. One of the important applications of taste sensors is the creation of a placebo for comparative clinical trials. When a test drug has a specific taste, it is necessary to give the same taste to the placebo. It is expected that taste sensors will be useful for the scientific and quantitative prescription design and quality control of the placebo.

Is it possible to evaluate taste by conventional chemical analysis? The answer is "No." First, chemical analysis cannot predict the taste of an unknown compound. Basically, chemical analytical techniques, such as HPLC, can only measure the concentration of taste components in a liquid. Let's assume a case where it is necessary to determine the content of aspartame, a sweetener, to be added to a health drink containing quinine, a representative bitter substance. It is clearly meaningless to measure the concentration of the active ingredient by chemical analysis because it is constant, regardless of the content of the sweetener. Since taste is based on the interaction among components, taste cannot be evaluated by measuring the concentration of individual substances. Taste sensors have a potential to solve this problem by quantifying the addition of a sweetener to a bitter substance as the reduction of bitterness¹⁾.

Taste sensors were put into practical use in the early 1990's and have been mainly used in the food industry. They can now identify the difference between beer brands or

control inter-plant or inter-lot variability, which cannot be done manually. However, the applications of taste sensors in the pharmaceutical industry have remained been limited for the last decade: they are used only for confirming the reduced bitterness of quinine by adding a sweetener. When the authors started to examine the potential applications of taste sensors in pharmaceutical development three years ago, sensor manufacturers were skeptical, saying, "It is nearly impossible to quantify drug taste." This is because various compounds have to be considered in quantifying drug taste, unlike food products containing limited taste components, such as beer and coffee. With the focus on bitter drugs, the authors tried measuring the degree of bitterness and effect to mask bitter taste and successfully quantified them³⁾. Subsequently, Uchida et al. extensively measured the taste of commercially available preparations³⁻⁵⁾, proposing some problems to be solved. The authors have also improved the processing method of the taste signal to increase taste information.

In the present article, the potential application and usefulness of taste sensors in pharmaceutical development are discussed to identify the current level of the taste quantifying technique.

2. Evaluation and prediction of taste of drug substance

Taste sensors have been generally used to quantify the difference in the taste of the same kind. For example, the use of taste sensors has been reported for the evaluation of food products, such as beer^{6,7)}, sake⁸⁾, green tea⁹⁾, miso¹⁰⁾, and milk¹¹⁾, or for the quantification of the effect of a sweetener added to a bitter drug substance¹²⁾. They have also been applied to the evaluation of the change in taste or flavor over time¹³⁾. However, they have not been used to compare different kinds of taste or evaluate the taste of unknown compounds. Therefore, the development of a technique to predict taste was attempted by selecting taste sensors that responded to as many types of taste as possible and specifying a standard taste.

2.1 Experimental method

A taste perceiving device, SA402 (Anritsu Corporation) was used to predict taste. Figure 1 shows the sensors of SA402.

Figure 2 shows the measurement procedure of the experiment. The electric

potential of the reference solution before measuring a sample is expressed as V_r , the measured value of the sample as V_s , and the electric potential of the reference solution after measuring the sample as V_r' . The reference solution corresponded to human saliva. The change in the electric potential from V_r is considered as a taste signal, which is hereinafter called a relative value ($V_s - V_r$). Table 1 lists the reference and detergent solutions used for measurement. The reference solution was experimentally prepared to have almost no taste and produce a stable output from the taste sensors.

The change in the electric potential of the reference solution before and after measuring a sample ($V_r' - V_r$) results from the changes in the charge density and structure of the lipid membranes by the adsorption of taste components to the membranes. The change corresponds to aftertaste ($V_r' - V_r$), which is hereinafter called the change of membrane potential caused by adsorption (CPA). The relative and CPA values were used to analyze taste.

Figure 1: Sensors of taste perceiving device, SA402

Lipid membrane

Figure 2: Measurement procedure

Table 1: Reference and detergent solutions used for SA402

Table 2 shows the composition of the lipid membranes used as sensors. Among lipid membrane sensors considered including ten other membranes, those listed in Table 2 were selected because of independent responses to various tastes of drugs and long service life.

Donepezil hydrochloride was assumed as a model drug with unknown taste under development. Table 3 lists five basic tastes including salty, sour, sweet, umami, and bitter (cation and anion) tastes and a taste component used as the standard of astringency. Table 4 lists standard bitter drugs. These basic taste substances and model drug were measured with the taste sensors and the results compared to predict the taste of the model drug.

Table 2: Lipid membranes of SA402 used for measuring drug taste

Table 3: Basic tastes and concentrations of components in taste prediction

Table 4: Organoleptic test results of standards of bitterness and numbness

++++: Bitter (stimulant) enough to paralyze the tongue

++++: Markedly bitter (stimulant)

+++ : Very bitter (stimulant)

++ : Bitter (numbing)

+ : Slightly bitter (slightly numbing)

± : Causes some feeling

2.2 Results and discussion

2.2.1 Comparison with basic tastes

Figure 3 shows the response patterns of the taste sensors to the basic tastes. Since the eight lipid-membrane sensors showed specific responses to the tastes, the sensors could distinguish the tastes. Note that the sensors showed completely different responses to quinine hydrochloride and picric acid, both of which provide bitter taste. This is because the former present as a cation in aqueous solution caused poor responses of positively charged Sensors 5 to 8, while the latter present as an anion caused poor responses of negatively charged Sensors 1 to 4. Care should be taken to the fact that the device may perceive the tastes of the same tendency as completely different tastes when they have electrically opposite properties. It is therefore considered necessary to use both positively and negatively charged reference substances when the electric properties of the target substance which predicts the taste is unknown.

Figure 3: Response patterns of lipid membranes to basic tastes

(Note: The measured values are not continuous, but connected with broken lines for better visualization.)

The aqueous solution of donepezil hydrochloride used as the model drug was then measured with the taste sensors. The results of the solution as well as the basic

tastes were combined for the principal component analysis using the relative and CPA values. Figure 4 shows the analytical results. The principal component analysis is defined as “a statistical method to extract components containing as much state information as possible, or components whose state can be easily explained, from multivariate data in the order of contribution rate”. The results showed that the sensors made almost the same responses to donepezil hydrochloride and quinine hydrochloride, which suggests that the predominant taste of donepezil hydrochloride is bitterness.

Figure 4: Results of principal component analysis of basic tastes and donepezil hydrochloride

(PC1: First principal component, PC2: Second principal component)

2.2.2 Evaluation of degree of bitterness

To evaluate the degree of bitterness, the taste of donepezil hydrochloride and standards with known degrees of bitterness in Table 4 was measured with the taste sensor and the results evaluated by the principal component analysis. Figure 5 shows the analytical result. Since earlier organoleptic examination showed that azelastine hydrochloride was bitterest and ticlopidine hydrochloride had least bitterness among the bitter standards, it is reasonable to think that the first principal component (PC1) is bitterness. These bitter standards causes a common characteristic feeling of numbness, although, strictly speaking, it is not taste. Since azelastine hydrochloride caused severest numbness, followed by ticlopidine hydrochloride, it is considered that the second principal component (PC2) is numbness. Therefore, it is reasonably predicted that donepezil hydrochloride is not bitterer than azelastine hydrochloride or quinine hydrochloride, but bitterer than ticlopidine hydrochloride. And that donepezil hydrochloride is not more numbing than azelastine hydrochloride or ticlopidine hydrochloride, but slightly more numbing than quinine hydrochloride. Although it is difficult to strictly compare the taste of these very bitter standards with organoleptic examination, as described above, donepezil hydrochloride was evaluated as slightly bitter (+) or slightly numbing (+) in organoleptic examination, which results were comparable to those of eperisone hydrochloride.

Therefore, the results obtained suggest the potential of the taste sensors to predict

taste without depending on organoleptic examination.

Figure 5: Results of principal component analysis of bitterness and numbness standards and donepezil hydrochloride (PC1: First principal component, PC2: Second principal component, numbness, CR: contribution rate)

3. Taste measurement of health drinks

Organoleptic examination of health drinks with taste based on multiple active ingredients was performed. Among the health drinks from Makers A to E, those from Makers A and B are intended to supply iron, while those from Makers C, D, and E are intended to supply vitamin C. The taste of the health drinks was organoleptically evaluated by instructing testers to choose the expression that most correctly expressed the taste they felt from 16 expressions. Table 5 shows the two expressions most frequently selected by the testers.

3.1 Evaluation using lipid membrane sensors

The taste of the health drinks was then measured using the lipid membrane taste sensors (SA402) and the results evaluated by the principal component analysis. Figure 6 shows the analytical results. The meaning of principal components was examined with reference to the expressions in Table 5. The first principal component on the horizontal axis has a contribution rate of 65.6%. The taste became quirky and promising as the value increased, became stronger with aftertaste as the value decreased, and was evaluated as clear and easy to drink in the intermediate region. Gathering from the composition on the label, the effect of iron taste seemed strong. The second principal component on the vertical axis has a contribution rate of 28.2% and is considered to indicate that the taste became "sour" as the value increased and became "sweet" as it decreased. The figure indicates that the three health drinks from Maker A are designed to have a similar taste, in spite of the different types and quantities of components. It is worth attention that the health drink from Maker C containing four active ingredients and that from Maker D containing nine active ingredients had similar taste.

Thus, the present method using the taste sensors can measure the taste of even systems containing multiple drugs in a similar manner to the human taste sensation and

create a detailed taste map.

Table 5: Results of organoleptic examination results of commercially available health drinks

A-1	Taste as expected for the health drink	Tasteful
A-2	Tasteful	Taste as expected for the health drink
A-3	Taste as expected for the health drink	Tasteful
B-1	Quirky	Promising
B-2	Easy to drink	Clear
C	Sweet	An aftertaste remained.
D	Sweet	Strong
E	Sour	Clear

Figure 6: Results of principal component analysis results of taste of health drinks using SA402.

Figure 7: Appearance of α ASTREE and sensor array

Software
Electric control unit
Sensor array
Autosampler

3.2 Evaluation with ion-sensitive FET sensor

An ion-sensitive field effect transistor (FET) sensor, α ASTREE (ALPHA MOS), was released this year²⁸⁾. Figure 7 shows the outline of the system. The sensor array has an ion-sensitive membrane at the gate of the field effect transistor. Figure 8 shows the principal component analysis of the above health drinks using the measured values of the α ASTREE system. The contribution rates of the first and second principal components are 53.3% and 43.7%, respectively. The figure shows that the tastes of the health drinks from Makers C and D, which were considered to have almost the same taste

in the analysis using SA402, could be clearly distinguished. Although organoleptic examination failed to show any clear taste tendency for the two drinks, α ASTREE could distinguish the slight difference in taste by different components. However, it should be noted that it was difficult to relate the axes of the principal component analysis to the results of organoleptic examination.

It seems that SA402 is being tuned to come close to human taste sensation by increasing the specificity of sensors to various tastes^{26,27)}, while α ASTREE focuses on taste distinction. It is hoped that the two systems will be further developed.

4. Conclusions

(1) The taste of various drugs could be quantitatively evaluated with the lipid membrane taste sensors.

(2) Taste could be predicted with the taste sensors even for compounds at the early stage of development whose safety had not been confirmed.

(3) The taste sensors could evaluate taste in a similar manner to human taste sensation and create a taste map even for health drinks containing multiple active ingredients.

(4) Lipid membrane sensor SA402 is being tuned to come close to human taste sensation, while the ion-sensitive FET sensor, α ASTREE, focuses on taste distinction.

Figure 8: Results of principal component analysis results of taste of health drinks using α ASTREE



Evidence D

味センサーを用いた 医薬品の味の定量化

Quantification of Taste of Medicines with a Taste Sensor

エーザイ株式会社 製剤研究所 川島研究室

原田努, 加藤隆, 大脇孝行, 岩本清

Eisai Co., Ltd. Formulation Research Lab. Kawashima Research

TSUTOMU HARADA, TAKASHI KATO, TAKAYUKI OWAKI, KIYOSHI IWAMOTO

1. はじめに

なぜ、医薬品の味をセンサーで測定する必要があるのだろうか。パネルの協力を得て行われる医薬品の味の官能試験には、次のような問題がある。

- ①安全性が不明確な開発初期の原薬の味見は危険。
- ②強い苦みや刺激のある薬物や、後味が残る薬物の連続的な評価は不可能。
- ③味を客観的に表現し、記録することは難しい。
- ④多くの人数を必要とする上、パネルの熟練度や体調などに評価が左右される。

特に(1)、(2)は医薬品業界に特有の問題であり、このような観点からはセンサーを用いた味の測定は、食品業界より潜在ニーズが高いかもしれない。1つの例としてプラセボを用いた比較試験が考えられる。試験薬物に特有の味がある場合、プラセボにも同様の味を付与しなければならないケースがある。したがって、プラセボの処方設計や品質管理を、科学的かつ定量的に行うにあたり、味センサーは特に有用であると期待される。

ところで、従来の化学分析により、味の評価はできる

のであろうか。答えは“NO”である。まず、化学分析では未知の化合物の味を予測することはまったくできない。また、高速液体クロマトグラフィーなどを用いた化学分析で測定するのは、基本的に液中の呈味物質の濃度である。例えば、苦味の代表格であるキニーネのドリンク剤を開発するにあたり、甘味剤のアスパルテーム[®]の配合量を検討する場合について考えてみる。甘味剤を増やしたところで、キニーネ濃度は変わらないので、化学分析により主薬濃度を測定しても無意味であることは容易に想像できる。味には相互作用があるので、個々の呈味物質の濃度を測定しても、味を評価することはできないのである。味センサーはこのような問題を解決できる可能性を秘めている。すなわち、苦味物質に甘味剤を添加すれば、苦味自体が減ったように数値化することができるのである¹⁾。

味センサーは90年代初頭に実用化され、食品業界を中心に利用されてきた。ヒトでは難しい、ビール銘柄の特定や、工場間およびロット間の味のばらつきなども管理できるレベルにまで達している。しかし、医薬品に関してはどうか。キニーネに甘味剤を添加し、苦味が低減されることを確認したにとどまり、この10年間あまり、積極的に研究されてこなかった。著者らが3年ほ

味センサーを用いた医薬品の味の定量化

ど前に着手した際、センサーメーカーからは「医薬品の味の測定はまず無理である」と言われた。ビールやコーヒーなど呈味物質が限定された母集団の味の測定とは異なり、医薬品では測定する化合物が多種多様にわたるからである。そこで筆者らは、まず苦味を呈する薬物に絞り込み、その苦味の強さ、苦味マスキングの効果などを測定することを試み、定量的に評価することに成功した²⁾。その後、内田らにより市販されている薬物について広く味の測定³⁻⁵⁾が行われ、現時点での課題などが明らかになってきた。また、味信号の処理方法に工夫を加え、さらに情報量の増加を図っている。

本稿では、医薬品の開発過程における味センサーの利用の可能性および有用性を検証し、現時点での味の定量化技術のレベルを明らかにする。

2. 原薬の味の評価と予測

これまでの味センサーの使用例は、同じ種類の味の中で、その差を定量化するものであった。例えばビール^{6,7)}、清酒⁸⁾、緑茶⁹⁾、味噌¹⁰⁾、およびミルク¹¹⁾といった食品の評価、あるいは、苦味薬物に甘味剤を添加した効果の定量化¹²⁾が報告されている。また、味や風味の経時変化¹³⁾の評価にも利用されている。しかし、いずれも複数のまったく異なる物質の味を比較したものではなく、未知の化合物に関しては適用例がない。そこで、できるだけ多くの味に応答するようにセンサーを選定し、標準となる味を設定して、味の予測を試みた。

2.1 実験方法

味の予測には、味認識装置SA402(アンリツ製)を用いた。図1に、SA402のセンサー部分を示す。

測定の手順を図2に示す。サンプルを測定する前の基準液の電位を V_r 、サンプルの測定値を V_s 、サンプル測定後の基準液電位を V_r' とする。基準液は、ヒトにおける唾液に相当し、そこからの電位変化が味信号であり、ここでは相対値($V_s - V_r$)と呼ぶことにする。測定に用いた基準液と洗浄液を表1に示す。基準液は無味に近く、かつ味センサーの出力が安定になるように実験的に求められたものを用いている¹⁴⁾。

サンプルを測定した前と後での基準液の電位変化($V_r' - V_r$)は、膜に呈味物質が吸着したことにより、膜

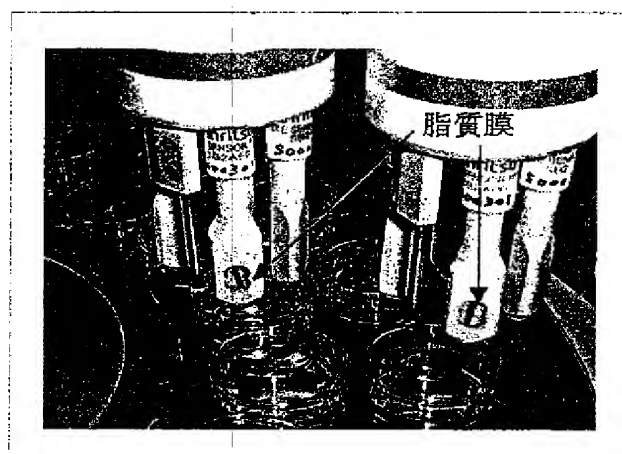


図1 味認識装置SA402のセンサー部分

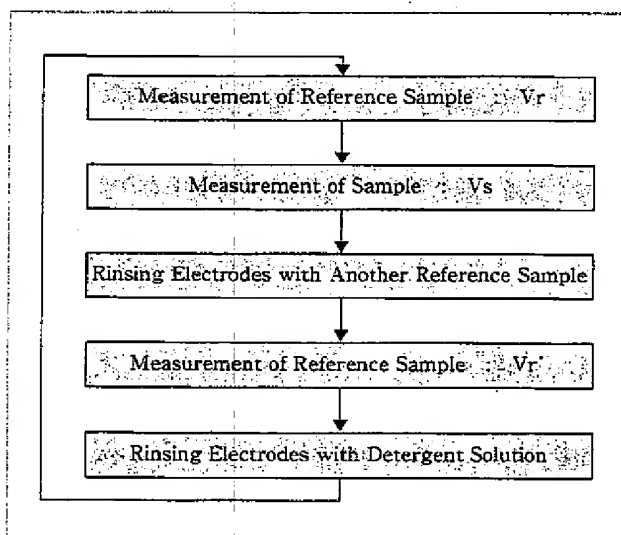


図2 測定手順

表1 SA402において使用した基準液および洗浄液

Solution	Component
Reference Sample	30mM KCl+0.3mM tartaric acid
Detergent Solution for 1~4ch(-)	10mM HCl+30% Ethanol
Detergent Solution for 5~8ch(+)	10mM KOH+100mM KCl+30% Ethanol

の電荷密度や構造が変化したことに由来すると考えられる。ヒトにおいては後味に相当する($V_r' - V_r$)を、ここではCPA(Change of membrane Potential caused by Adsorption)値と呼び、相対値と共に味の解析に用いた。

表2にセンサーとして用いた脂質膜組成を示す。検討

表2 医薬品の味の測定に使用したSA402の脂質膜

Channel	Lipid component
1	Diethyl phenyl-phosphonate
2	Hexadecanoic acid, diethyl phenyl-phosphonate
3	Phosphoric acid di-n-decyl ester, 2-nitrophenyl octyl ether
4	Phosphoric acid di-n-decyl ester, diethyl phenyl-phosphonate
5	Tetradodecylammoniumbromide
6	Trioctyl methyl ammonium chloride
7	Tetradodecylammoniumchloride
8	2-nitrophenyl octyl ether

した脂質膜センサーはこの他にも10種類ほどあるが、多種多様の医薬品の味に対して、それぞれのセンサーができるだけ各々独立した応答を示し、かつ耐用性を有するものを実験的に選んだ。

開発中で味が未知と仮定したモデル薬物に、塩酸ドネペジルを選んだ。表3に塩味、酸味、甘味、旨味および苦味(カチオンとアニオンの2種類)の5基本味と渋みの基準となる呈味物質を示す。表4には苦味の指標となる薬物を示す。これらの基準となる味物質とモデル薬物をセンサーにより比較し、味の予測を行った。

表3 味の予測に用いた基本味と成分濃度

Basic taste	Substance (Concentration)
Sour	Citric Acid (10mM)
Salty	Sodium Chloride (100mM NaCl)
Sweet	Sucrose (300mM)
Umami taste	Monosodium Glutamate (10mM MSG)
Bitter (cation)	Quinine-HCl (3mM)
Bitter (anion)	Sodium Picrate (3mM)
Astringency	Tannic Acid (1%)

表4 苦味と痺れ感の標準物質の官能試験結果

	Bitterness	Numbness
Azelastine hydrochloride	+++++	++++
Quinine hydrochloride	++	±
Eperisone hydrochloride	+	+
Ticlopidine hydrochloride	±	+++
+++++: 舌の感覚が麻痺するほどの苦味(刺激)		
++++: 激しい苦味(刺激)		
+++ : とても苦味(刺激)を感じる		
++ : 苦い(痺れる)		
+ : 少し苦い(痺れる)		
± : かすかに何か感じる		

2. 2 結果と考察

2. 2. 1 基本味との比較

味センサーで測定した基本味の応答パターンを図3に

Tabletting Punches and Dies

モリマシナリーのパンチ・ダイは独自の鋼材焼き入れ技術と最新の3次元CAD/CAMシステムにより、お客様の高度なご要望にお応えいたします。

特長

- スピード時代に対応した短納期
- 50年の経験と実績が生み出す高品質
- お客様のニーズに応じた製品づくり
- お客様の管理に最適な見易いマーキング
- ハードクロムメッキをはじめ、各種表面処理に対応

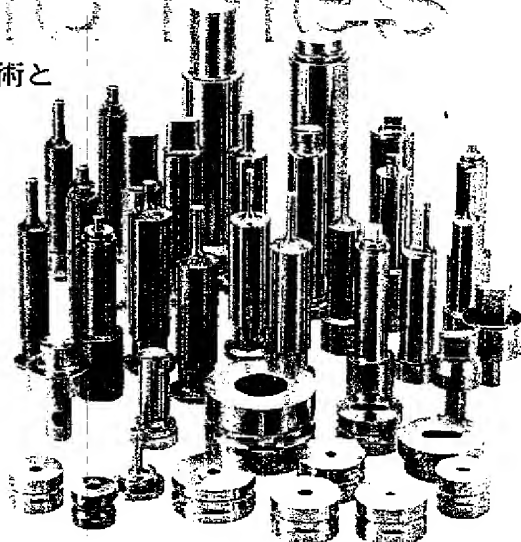


技術と信用で奉仕する

モリマシナリー株式会社

お問い合わせ

〒701-2434 岡山県赤松郡言井町仁堀東1383
化学装置部 TEL.0869-58-2327 FAX.0869-58-2611



DM資料請求カードNo.277

味センサーを用いた医薬品の味の定量化

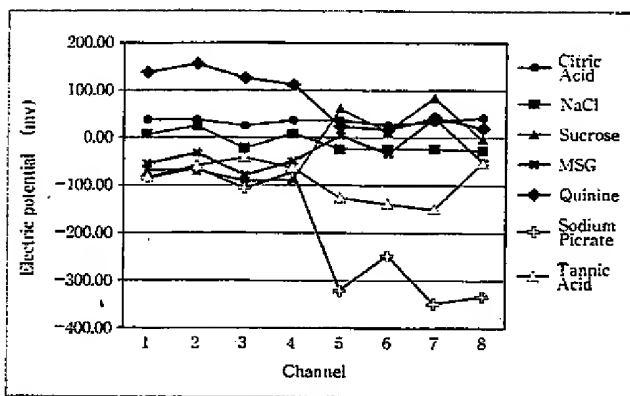


図3 脂質膜センサーの基本味に対する応答パターン
(注: 折れ線はパターンを見やすくするために測定値に連続性はない)

示す。8つの脂質膜センサーが、それぞれの味に対し特異な応答を示し、これらの味の識別が可能であることを示している。ここで、同じ苦味を呈する塩酸キニーネとピクリン酸がまったく異なる応答を示していることがわかる。これは前者が水溶液中においてカチオンなので、プラス

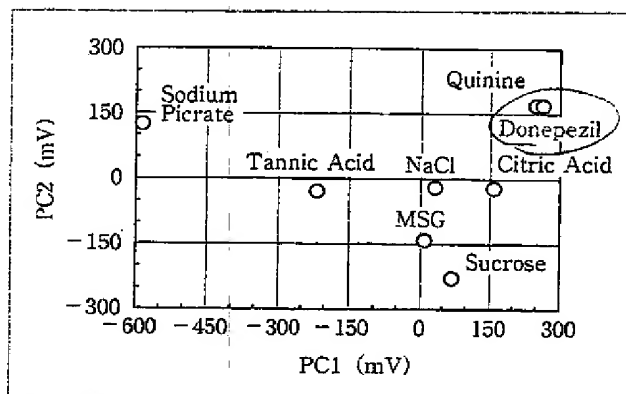


図4 基本味と塩酸ドネペジルの主成分分析結果
(PC1: 第1主成分, PC2: 第2主成分)

にチャージしているセンサー5~8の応答が悪く、後者はアニオンなのでマイナスにチャージしているセンサー1~4が応答しにくいことによる。味の傾向が同じでも電気的に反対の性質を持てばまったく違う味として認識してしまうので注意が必要である。したがって、味を予測する物質の電気的な性質が不明の場合、プラスとマイナスの電荷を持った基準物質が測定に必要であることを意味している。

モデル薬物の塩酸ドネペジル水溶液を味センサーで測定し、基本味と共に相対値とCPA値の主成分分析を行った結果を図4に示す。主成分分析とは簡単に言うと、「多変量のデータから、状態の情報をなるべく多く取り込んだ成分を、言い換えれば、状態を説明しやすい成分を、寄与率の大きい方から抽出する統計的手法」である。その分析結果から、塩酸ドネペジルは塩酸キニーネとほとんど同じ応答を示していることがわかる。すなわち、塩酸ドネペジルの味は苦味が最も支配的であることが示唆された。

2.2.2 苦味の程度の評価

次に苦味の程度を調べるため、表4に示した苦味の程度が既知の標準物質と塩酸ドネペジルを測定し、主成分分析した結果を図5に示す。官能試験から、苦味標準物質の中でも塩酸アゼラスチンが最も苦く、塩酸クロロピジンが最も苦味が少ないことが分かっている。第1主成分PC1は苦味の因子であることがわかる。また、味とは言えないが、これらの苦味物質が呈する特徴的な

測定方式が

錠剤硬度計の測定方式にはステップ・モータ方式とDCモータ方式の2種類があります。

ERWEKA

錠剤硬度計
MULTICHECK
MULTICHECK-S

各方式による測定値はかなり違いますが、現時点では全てのサンプル(錠剤)に通用する補正方法はありません。エルヴェカ社では、測定値の違いは測定方式の違い(モーターの違いによる)であると判断し、それぞれの方式による錠剤硬度計をご用意いたしました。

	ステップ・モータ方式	新DCモータ方式
硬さ	TBH20/200	TBH200-S
硬さ・硬さ	TBH300	TBH300-S
硬さ・硬さ(デフォルト)	TBH300M	TBH300M-S
硬さ・硬さ・硬さ	TBH300MD	TBH300MD-S
硬さ・硬さ・硬さ・硬さ	TBH300GMD	TBH300GMD-S
硬さ・硬さ・硬さ・硬さ	MULTICHECK	MULTICHECK-S

選択できます。

SiberHegner® 日本シベルヘグナー株式会社
テクノロジー事業部門 科学機器部

本 部 〒231-8561 横浜市中区山下町89-1(シベルヘグナービル) ☎045(664)8038
大阪支店 〒542-0081 大阪市中央区南船場4-3-11(豊田ビル) ☎06(6271)2431
●URL <http://www.nshkk.co.jp/japan/TP/lab/labindx.htm> ●E-mail infolab@nshkk.co.jp

D M 資料請求カードNo.204

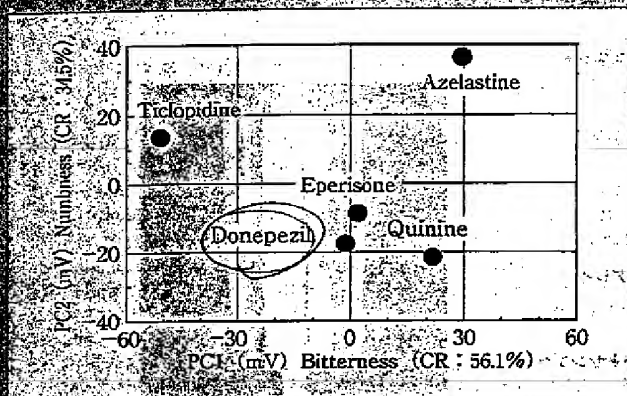


図5 苦味・痺れ感の標準物質と塩酸ドネペジルの主成分分析結果
(1:主成分PC1は苦味、2:主成分PC2は痺れ感、CR:寄与率)

感として、痺れ感が挙げられるが、塩酸アゼラスチンについて塩酸チクロピジンはこの痺れ感が大きいので、第2主成分PC2はこれに相当すると思われる。したがって、塩酸ドネペジルは塩酸アゼラスチンや塩酸キニーネほど苦くなく、塩酸チクロピジンよりは苦いという予測が成り立つ。そして、痺れ感は塩酸アゼラスチンや塩酸チクロピジンほど強くなく、塩酸キニーネよりは若干痺れ感があると考えられる。実際これらの物質は非常に苦いので、最初に述べたように、官能試験で正確に味を比較することは難しいが、塩酸ドネペジルの苦くなく、おだやかに痺れる(+)味であり、塩酸エペリスンと同等レベルであることが、官能試験により確認されている。つまり、官能試験に頼ることなく、センサーを用いて味を予測できる可能性が示唆された。

3. ドリンク剤の味測定

主成分の有効成分が味を形成しているドリンク剤について、官能試験を行った。A～D社のドリンク剤のうち、A社とB社品は成分補給、C・DはさらにB社品とビタミンCの補給を主眼としたドリンク剤である。評価は16種類の味の形容詞を並べたパネルに適合すると思われる表現を複数の中から選んで、最も多くのパネルが選んだ2つの形容詞を抜き出して表5に示す。

3.1 脂質膜センサーによる評価

脂質膜味センサーSA402を用いてドリンク剤の味を測

表5 市販ドリンク剤の官能試験結果

A-1	ドリンク剤らしい味	おいしい
A-2	おいしい	ドリンク剤らしい味
A-3	ドリンク剤らしい味	おいしい
B-1	クセがある	効果がありそうな味
B-2	飲みやすい	すっきりしている
C	甘い	後味が残る
D	甘い	味が濃い
E	酸っぱい	すっきりしている

定し、主成分分析の結果を図6に示す。表5の形容詞と照らし合わせて、主成分の意味づけを行なった。横軸の第1主成分の寄与率は65.6%で、数値が大きいほど「クセがある」で効果がありそうな味であり、小さいほど「濃くて後味が残る」になり、その間は「すっきりしていて飲みやすい」という評価となった。これは各品に記載の配合量から推測して、成分の味が少なからず影響しているようである。また、縦軸の第2主成分は寄与率が28.2%であり、数値が大きいほど「酸味」があり、小さいほど「甘い味」であることを意味すると思われる。図から、A社の3製品は配合物質の種類や量は異なるが同じような味に設計されていることがわかる。また、C社品は有効成分が4種類、D社品は9種類配合されているにもかかわらず同じような味であると評価されたことが注目し値する。また、B社の2製品はA社品よりも以上のようにも種々の薬物が混在した系でも、B社の感覚に近い味の測定が可能であり、味の詳細なマップを作り出せることができるといえる。

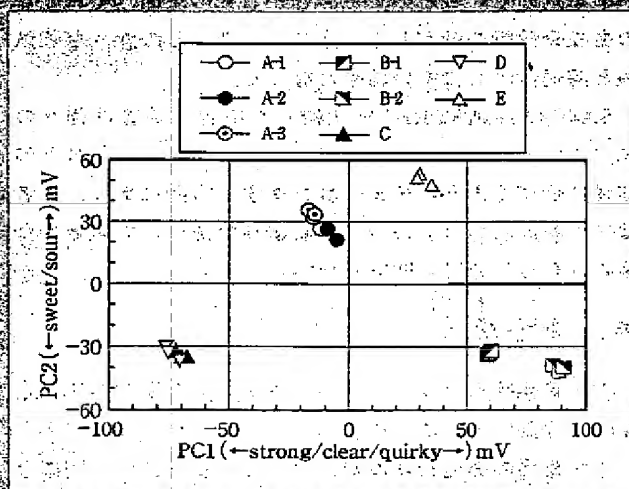


図6 SA402によるドリンク剤の味の主成分分析結果

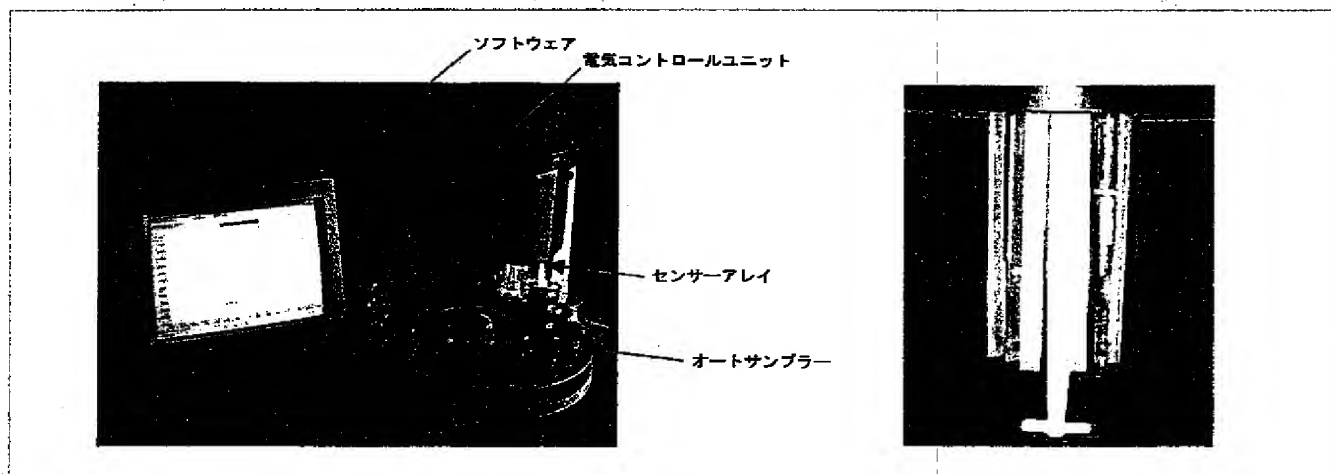


図7 αASTREEの外観とセンサーアレイ

3. 2. イオン感应型FETセンサーによる評価

本年に入り、イオン感应型FET(field-effect transistor)センサーαASTREE(ALPHA M.O.S製)¹⁰⁾が発売された。図7にその外観を示す。センサーアレイは電界効果型トランジスタのゲート部分にイオン感应膜を形成したものである。この装置を用い、前出のドリンク剤の味を測定した結果を図8に示す。第1主成分の寄与率は53.3%、第2主成分は43.7%であった。図からSA402ではほとんど同じ味と認識されたC社とD社の製品の味を、明確に区別できていることがわかる。実際の味は官能試験では明確な傾向が認められなかったが、成分は異なるので味が違うことは間違いない。αASTREEは微妙な味の違いを識別しているといえる。しかしその反面、それぞれの主成分分析の軸がどういう味を意味するのか、官能試験と関連付けにくい結果となった。

SA402とαASTREEを比較した場合、前者は種々の味に対するセンサーの特異性を増して^{10,11)}、よりヒトの感覚に近づくようにチューニングする方向にあり、後者は味の判別に力点をおいているようである。両装置の今後のさらなる発展に期待したい。

4. まとめ

①脂質膜味センサーを用い、さまざまな薬物の味を定量的に評価できることを示した。

②医薬品の開発初期段階において、安全性が不明確なために味を調べることができないような化合物において

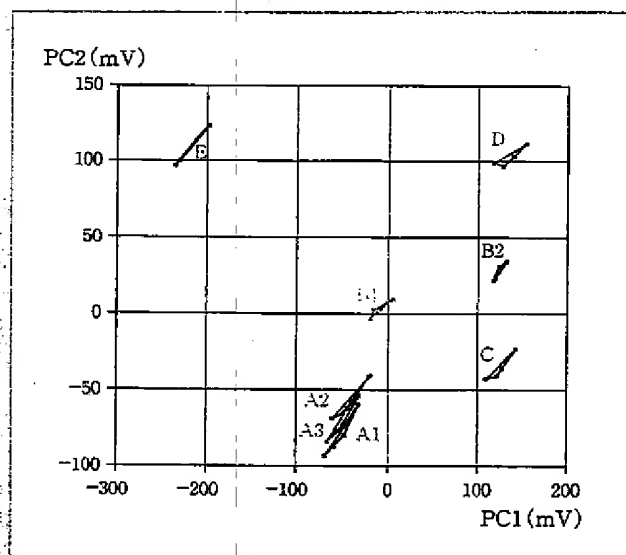


図8 αASTREEによるドリンク剤の味の主成分分析結果

も、味センサーを用いることにより、味の予測が可能であった。

③ドリンク剤の味を評価した結果、複数の有効成分が混在した系でも、ヒトの感覚に近い味の測定ができ、味マップの作成が可能であることを示した。

④現時点において、脂質膜センサーSA402は、よりヒトの味覚に近いセンサーとしてチューニングされており、イオン感应型FETセンサーαASTREEは、味の判別に力点がおかれたセンサーであることがわかった。

- 37(1373)